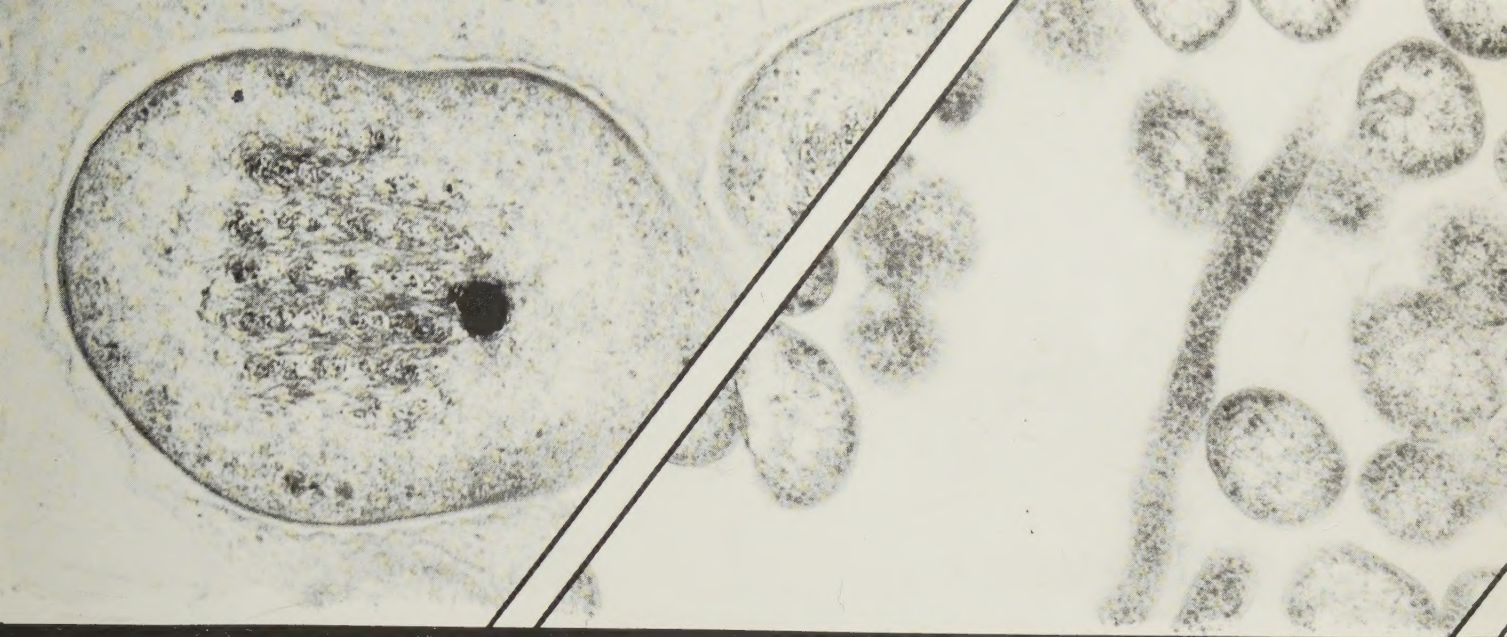
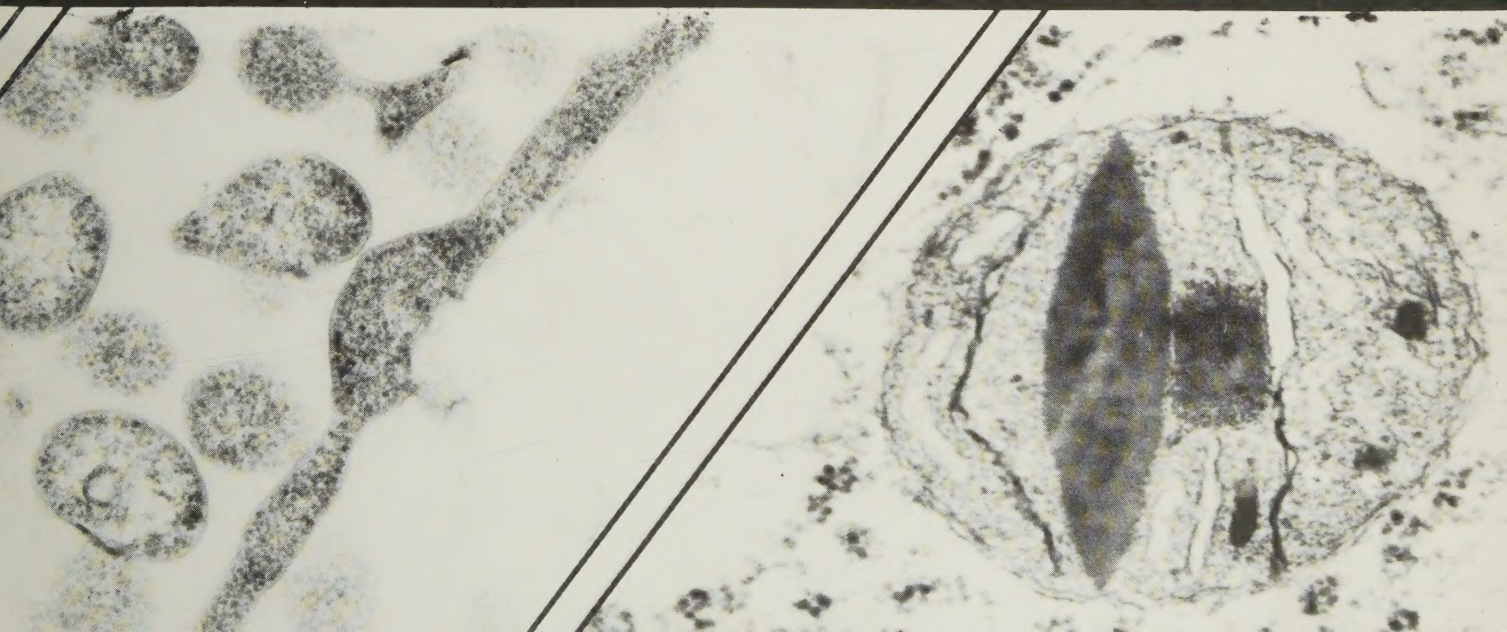


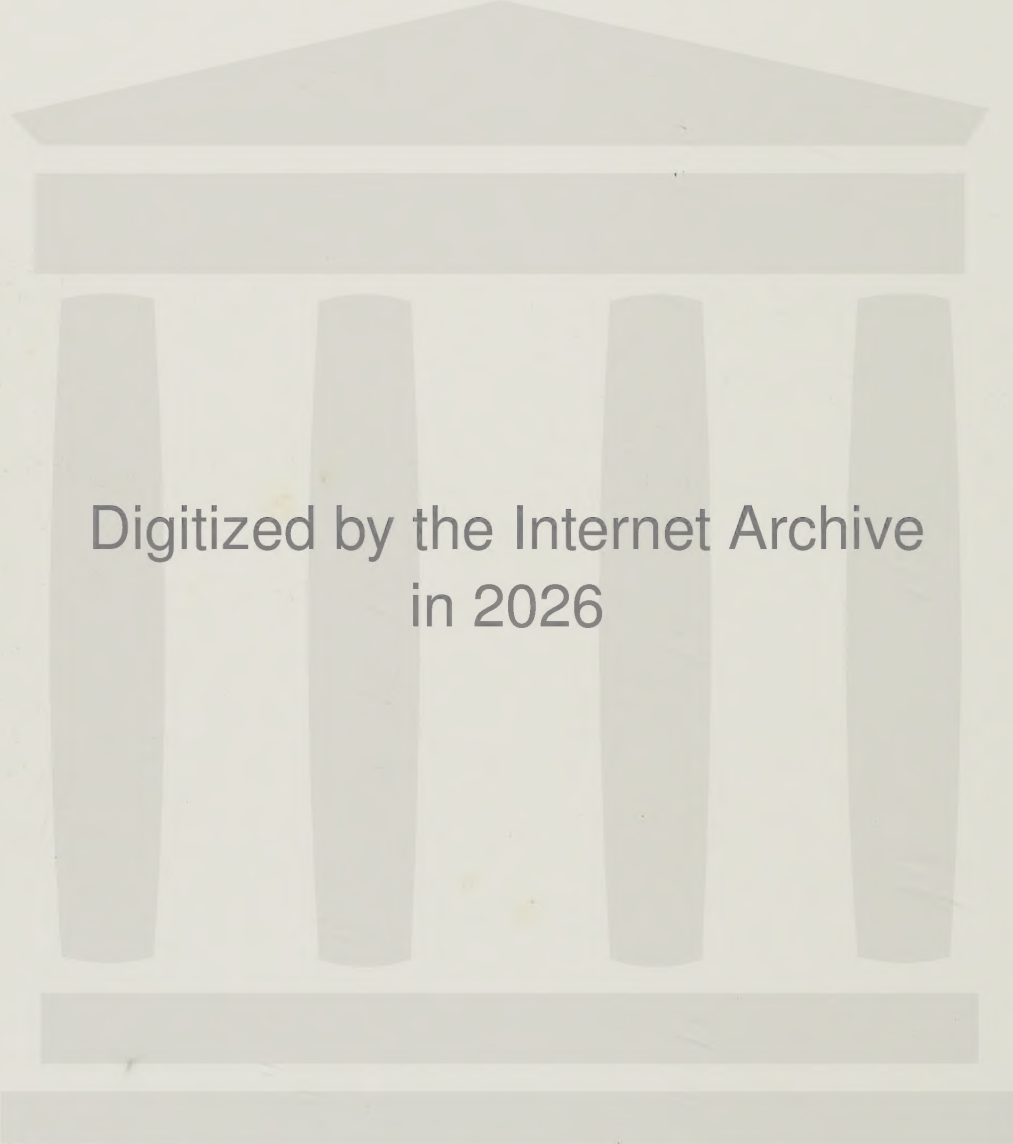


J.P. GOURRET

**UNE ÉTUDE ULTRASTRUCTURALE COMPARATIVE
DES MYCOPLASMES PHYTOPATHOGÈNES, DES BACTÉRIES DES
NODULES RACINAIRES ET DES PLASTES.**

RENNES 1975





Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551505_0010

SÉRIE : C

N° D'ORDRE : 207

N° DE SÉRIE : 59

THÈSE

présentée devant

L'UNIVERSITÉ DE RENNES

U.E.R. des Sciences Biologiques

pour obtenir

Le grade de Docteur es-Sciences Naturelles

par

Jean-Pierre GOURRET

Une étude ultrastructurale comparative des Mycoplasmes phyto-
pathogènes, des Bactéries des nodules racinaires et des plastes.

Soutenue le 4 Novembre 1975 devant la Commission d'Examen

MM. P.L. MAILLET

R. BUVAT

R. FOLLIO

Y. BOULIGAND

A. QUISPEL

Président

Examineurs

UNIVERSITE DE RENNES

U.E.R. SCIENCES ET PHILOSOPHIE

Doyens Honoraires

M. MILON Y.
M. TREHIN R.
M. SCHMITT M.
M. LE MOAL H.
M. MARTIN Y.
M. BOCLE J.

Professeurs Honoraires

M. FREYMANN R.
M. HAGENE P.
M. ROHMER R.
M. TREHIN R.
M. SALMON - LEGAGNEUR F.
M. des ABBAYES H.
M. MILON Y.

Maîtres de Conférences Honoraires

M. GRILLET L.
M. LECRECQ A.

Mathématiques

Professeurs

M. GUERINDON Jean
M. METIVIER Michel
M. GIORGIUTTI Italo
M. TOUGERON Jean-Claude
M. MIGNOT Alain
M. HOUDEBINE Jean
M. KEANE Michaël
M. BOULAYE Guy

Maîtres de Conférences & Chargés de Cours

M. BERTHELOT Pierre
M. BREEN Lawrence
M. CAMUS Jacques
M. CONZE Pierre
M. FERRAND Daniel
M. GUIVARC'H Yves
M. LE GOUPIL Jean
M. LERMAN Israël
M. NEDELEC Jean-Claude
M. TRILLING Laurent
M. VERJUS Jean-Pierre

Physique

M. VACHER Michel
M. VIGNERON Léopold
M. LE BOT Jean
Mme ROBIN née SALOMOND
M. ROBIN Stéphane
M. LE MONTAGNER Serge
M. MEVEL Jean-Yves
M. MEINNEL Jean
M. REGENSTREIF Edouard
M. BRUN Pierre
M. LE ROUX Emile
M. DUBOST Gérard
M. ARQUES Pierre-Yves
M. HAEUSLER Claude
M. NUSIMOVICI Michel

M. GUIDINI J.
M. DECAMPS E.A.

Professeurs

Maîtres de Conférences & Chargés de Cours

Chimie

M. VENE Jean
M. LE MOAL Henri
M. LEVAS E.
M. PELTIER Daniel
M. PRIGENT J.
M. FOUCAUD André
M. LANG Jean
M. CARRIE R.
M. GUERILLOT Claude-Roger
M. KERFANTO Michel (E.N.S.C.R.)
M. DABARD René
M. GRANDJEAN Daniel
M. LUCAS Jacques
M. MARTIN Guy

M. TALLEC André

Chimie Biologique

M. JOUAN Pierre
M. DUVAL Jacques

Géologie

M. COGNE Jean
Mlle DURAND Suzanne
M. BOILLLOT Gilbert

M. HAMEURT Jean-Marie
M. LARDEUX Hubert

Zoologie

M. RICHARD Gaston
M. MAILLET Pierre
M. RAZET Pierre
M. FOLLIOU Roger
M. ALLEGRET Paul
M. MANIEY Jacques
M. JOLY Jean-Marie
M. LEFEUVRE J.C.

M. CALLEC Jean-Jacques

Botanique

M. VILLERET Serge
M. CLAUSTRES Georges
Mlle GOAS Gabrielle
Mlle GOAS Marie
Mme LEMOINE Cécile

M. TOUFFET Jean

Philosophie

M. ORTIGUES Edmond

M. JACQUES Francis
M. BEYSSADE Jean-Marie

REMERCIEMENTS

Je remercie tout d'abord les membres du groupe de Biologie Cellulaire de Rennes pour leur aide manuelle, technique, intellectuelle ou administrative et plus généralement pour une combinaison particulière de toutes ces compétences qui m'ont permis de mener à bien le présent travail.

Je remercie aussi tous les collègues botanistes ou agronomes qui m'ont aidé en proposant ou en acceptant des collaborations de recherches.

Je remercie encore les paysans -parents ou amis- de m'avoir fourni du matériel biologique et surtout de m'avoir appris à regarder vivre les plantes.

Je remercie enfin, tout particulièrement, les membres du jury pour leurs conseils judicieux et l'intérêt qu'ils ont bien voulu porter à l'ensemble du contenu de cette thèse malgré l'électisme de son titre.

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
MYCOPLASMES PHYTOPATHOGENES	4
Rétrospective	5
Planches	8
Résumé	37
Discussion	38
BACTERIES DES NODULES RACINAIRES	54
Rétrospective	55
Planches	57
Résumé	150
Discussion	155
PLASTES	176
Rétrospective	177
Planches	178
Résumé	238
Discussion	240
DISCUSSION D'ENSEMBLE ET CONCLUSIONS	251
Résultats de l'étude séparée des groupes	252
Interaction au sein de la plante	257
Appartenance à un même niveau d'organisation et théorie symbiotique	264
Conclusions	269
BIBLIOGRAPHIE	271

INTRODUCTION

L'étude qui suit, relève à la fois de la microbiologie et de la cytologie végétale. Nous y avons en effet, réuni des données ultrastructurales et cytochimiques concernant les Mycoplasmes phytopathogènes, les Rhizobium et les Actinomycètes des nodules racinaires fixateurs d'azote ainsi que des résultats sur les plastes. Ordinairement, on associe rarement ces objets biologiques puisque les premiers sont des microorganismes, alors que les derniers sont des organites cellulaires. Après les avoir étudiés séparément, nous allons montrer qu'il existe néanmoins de bonnes raisons de les confronter au sein d'une même étude.

La découverte des mycoplasmes de plantes remonte seulement à 1967, date à laquelle des chercheurs japonais les ont observés pour la première fois dans le phloème de plantes atteintes de quatre maladies différentes. Ces maladies étaient attribuées jusque là à des virus. L'année suivante, nous avons participé à une découverte analogue en étudiant des plantes atteintes de maladies voisines. Pour approfondir ces données nouvelles, qui bouleversaient tout un domaine de la phytopathologie, il nous a paru utile de préciser les caractéristiques cytologiques des mycoplasmes phytopathogènes et leur mode d'action sur les plantes infectées. L'interaction du programme génétique de la plante avec celui de ces parasites crée en effet des organes tératologiques qui sont connus et décrits depuis longtemps par les botanistes. Ces organes constituent un matériel d'étude intéressant pour la cytologie végétale. Il est de plus évident qu'une meilleure compréhension de ces maladies pourrait, par des applications agronomiques, permettre de réduire le dommage causé aux nombreuses plantes cultivées infectées par ces parasites.

L'étude des nodules racinaires fixateurs d'azote pose d'autres problèmes puisqu'il s'agit d'organes résultant d'une symbiose entre une bactérie (Rhizobium ou Actinomycète) et une plante. L'arrière-plan humaniste est néanmoins le même : il s'agit de mieux comprendre la symbiose grâce à des recherches fondamentales non dirigées, permettant ultérieurement des applications agricoles visant à réduire la pénurie de protéines alimentaires. On sait que les légumineuses nodulées sont des protéagineuses, c'est-à-dire qu'elles s'enrichissent en protéines, en particulier au niveau de leurs graines, grâce à la fixation symbiotique d'azote atmosphérique dans les nodules.

En ce qui concerne les plastes l'importance écologique et agronomique de la photosynthèse n'échappe à personne. L'étude de ces organites pouvait donc être justifiée, comme dans les deux cas précédents, par des considérations d'ordre fondamental et pratique. En effet, bien que les plastes aient déjà fait l'objet d'innombrables recherches de la part d'autres auteurs, il reste encore de nombreux points à préciser comme le montreront des résultats obtenus sur les protéoplastes du phloème des Abiétacées ou l'évolution des plastes au cours de l'ontogenèse des pétales. Nous montrerons, à ce propos, que les mycoplasmes phytopathogènes perturbent cette évolution en favorisant le développement de chloroplastes dans les "pétales" verts.

En ce qui concerne les techniques utilisées -sauf cas particuliers indiqués dans le texte- les fragments d'organes végétaux à étudier ont subi le traitement suivant : des pièces de très petite taille sont fixées dans du glutaraldéhyde froid (0-4°C) à 2,5% dans un tampon cacodylate à 0,1M et de pH 7,2 pendant 1 à 2 heures. Ces pièces sont ensuite postfixées dans l'osmium à 2% dans le même tampon pendant 2 heures. Après déshydratation par la série des alcools et l'oxyde de propylène les pièces sont incluses de manière orientée dans l'épon. Des coupes semi-fines sont réalisées à partir de chaque bloc et colorées au bleu de toluidine pour observation en microscopie photonique. Les coupes fines réalisées pour la microscopie électronique, sont contrastées à l'acétate d'uranyle et au citrate de plomb. Les techniques spéciales (coloration négative, autoradiographie, réactions cytochimiques) seront exposées dans le commentaire des résultats.

Pour désigner les espèces végétales dont des organes ont fait l'objet de notre étude nous nous sommes fondé sur les ouvrages suivants : Les Algues des côtes françaises (Manche-Atlantique) par P. Gayral, ed. Doin, Paris (1966); Manuel des Conifères par E.S. Debazac, ed. Ecole Nationale des Eaux et Forêts, Nancy (1964); Flore et végétation du Massif Armoricaïn par H. des Abbayes, Presses Universitaires de Bretagne, Saint-Brieuc (1971); Les quatre flores de France par P. Fournier, ed. P. Lechevalier, Paris (1961).

Du point de vue de la présentation de cette thèse nous avons essayé de faire en sorte qu'un maximum de données soient utilisables par des étudiants ou des enseignants en biologie. Ceci nous a amenés à rechercher un compromis entre la complexité des faits scientifiques et la nécessaire simplification didactique. Une place privilégiée a été accordée aux clichés de microscopie électronique et au commentaire qui les accompagne sur la page de gauche en face de chaque planche. Ayant en effet constaté que dans beaucoup de publications la légende des planches est souvent imprimée en petits caractères et de ce fait difficile à lire, nous n'avons pas utilisé le plan habituel des articles où ces planches constituent l'information principale. Le commentaire sera ici plus qu'une légende. Il pourra comprendre à la fois un bref exposé des techniques, l'équivalent du chapitre "observations" et parfois une discussion des résultats. Le corps de cette thèse est constituée de trois parties successives correspondant aux mycoplasmes, aux nodules et aux plastes. Chaque partie comprend une introduction sous forme de rétrospective, puis un chapitre de résultats incluant les planches photographiques, puis un tableau de données résumées et enfin une discussion où nous avons essayé de dépasser le point de vue morphologique pour aborder différents problèmes liés aux structures observées. Par souci didactique, les résumés débutent par un rappel de l'importance écologique des microorganismes et organites étudiés afin de situer notre travail dans une perspective de biologie générale. Une discussion d'ensemble et la bibliographie terminent cette étude.



MYCOPLASMES PHYTOPATHOGÈNES

RETROSPECTIVE

(des conditions concrètes et théoriques dans lesquelles nous avons mené des recherches sur les mycoplasmes phytopathogènes).

La découverte des mycoplasmes de plantes résulte, historiquement, de la convergence de deux séries de recherches correspondant à des problématiques différentes : l'étude des mycoplasmes d'origine animale, humaine ou saprophyte d'une part, la phytopathologie d'autre part.

L'étude scientifique des mycoplasmes débute en 1898 lorsque Nocard, Roux et leurs collaborateurs réussissent à cultiver *in vitro* pour la première fois, le microbe de la péripneumonie des bovidés grâce à l'addition, au milieu de culture, de sérum de vache ou de lapin. Les études cytologiques réalisées par Bordet (1910), ainsi que Borrel et coll. (1910), mettent en évidence la ténuité de ce microbe et l'extrême diversité de ses formes. Nowak, en 1929, propose de l'appeler *Mycoplasma*. Un agent pathogène du même type a, par ailleurs, été découvert par Bridré et Donatien (1925) dans le cas de l'agalaxie contagieuse du mouton et des chèvres. Plusieurs autres seront isolés dans les années qui suivent, à partir des animaux, de l'homme ou même des eaux d'égouts (Laidlaw et Elford, 1936). La liste des PPLO -Pleuropneumonia-Like Organisms, selon l'expression utilisée par les auteurs anglophones- s'allonge considérablement au fur et à mesure des découvertes. Leur connaissance s'approfondit également grâce à l'utilisation de différentes techniques. Parmi celles-ci, la microscopie électronique permet à différents auteurs (Iterson et Ruys, 1960; Anderson, 1964; Domermuth et coll., 1964; Anderson et Barile, 1965; Hummeler et coll., 1965) de vérifier que ces microorganismes ne possèdent pas de paroi et sont simplement limités par une membrane unitaire à trois feuilletts, d'environ 70 à 80 Å d'épaisseur. Cette membrane limite extérieurement le cytoplasme d'une cellule procaryote dans laquelle les auteurs distinguent parfois des fibres de DNA et des ribosomes en position périphérique.

En ce qui concerne maintenant la phytopathologie, la publication du mémoire de Kunkel (1926) sur la jaunisse de l'aster *Callistephus sinensis* Nees constitue une étape fondamentale en raison de l'étendue et de la valeur des travaux qui y sont exposés. En effet, Kunkel y décrit avec précision les symptômes de la maladie chez l'aster et évalue son extension au travers des Etats-Unis. A partir d'expérimentations conduites sur plusieurs années il découvre que l'agent pathogène (qu'il pense être un virus) peut être transmis à des plantes saines par une cicadelle *Cicadula sexnotata* Fall., mais pas par des insectes d'autres groupes vivant sur l'aster. L'insecte-vecteur ne transmet pas immédiatement la maladie mais seulement après une incubation minimale de 10 jours. Kunkel réussit la transmission de la jaunisse de l'aster à 50 espèces de plantes différentes pour lesquelles il décrit les symptômes. Il compare cette maladie avec plusieurs autres et trouve effectivement des ressemblances pour certaines d'entre elles. Il étudie enfin la survie du pathogène au cours de l'hiver dans les plantes infectées. Dans les années qui suivent les travaux de Kunkel, les maladies qui se rapprochent de la jaunisse de l'aster seront désignées sous le nom de "jaunisses" par analogie et seront attribuées à un virus que l'on cherche à mettre en évidence.

La découverte, par convergence des recherches précédentes, se produit une première fois en 1967. Cette année là des chercheurs japonais, Doi, Teranaka, Yora, Ishiie et Asuyama, publient deux articles dont l'un met en évidence par microscopie électronique, des cellules procaryotiques dans le phloème des plantes atteintes de quatre "jaunisses" différentes (nanisme du mûrier, balai de sorcière de la pomme de terre, jaunisse de la reine-marguerite sur *Petunia* et balai de sorcière du *Paulownia*). L'autre article signale la sensibilité de ces cellules parasites à l'action des antibiotiques du groupe de la tétracycline. Forts de ces observations et de leurs données expérimentales, les auteurs pensent que les maladies étudiées ne sont pas dues à un virus mais à un mycoplasme ou à un procaryote de type P.L.T. (organismes de la Psittacose, du Lymphogranulome ou du Trachome).

Une année plus tard, la même convergence s'est produite au laboratoire du professeur P.L. Maillet, lorsqu'y furent découverts les mycoplasmes responsables de trois "jaunisses" différentes : phyllodie du trèfle, maladie des germes fins du glaïeul et stolbur de la tomate. La liste des références bibliographiques accompagnant les articles relatant cette découverte (Maillet, Gourret, Hamon, 1968; Gourret, Maillet, 1968), montre d'une part la convergence des deux problématiques évoquées plus haut et d'autre part l'indépendance de cette découverte par rapport aux résultats antérieurs des auteurs japonais ou la découverte contemporaine de résultats analogues par Giannotti, Devauchelle et Vago (1968). Retraçons brièvement les conditions de cette découverte. A la suite de ses recherches sur les parasites et symbiontes des Homoptères, P.L. Maillet avait accumulé de nombreuses données (Maillet et Folliot, 1964, 1967a et b, 1968; Maillet, 1968), ainsi qu'une importante bibliographie sur les Rickettsiales et les Mycoplasmes. Par ailleurs, à l'INRA de Versailles, des recherches avaient été conduites, en particulier par M.T. Cousin, sur la phyllodie du trèfle, la maladie des germes fins du glaïeul et le stolbur de la tomate, maladies qui toutes trois avaient été transmises à la pervenche de Madagascar *Vinca rosea* L. et au tabac *Nicotiana tabacum* en ce qui concerne le stolbur seulement. Les modes de transmission par des cicadelles vectrices, par greffage ou par l'intermédiaire d'un pont de cuscute (*Cuscuta subinclusa*) étaient bien connus (Albouy et coll. 1967; Albouy, 1966; Cousin et coll., 1965; Cousin et Grison, 1966). Les symptômes externes avaient été clairement définis, en particulier au niveau des fleurs de la pervenche (Albouy et coll., 1967). De plus, des altérations spécifiques du phloème avaient été notées en particulier en microscopie à fluorescence (Cousin, 1967). Dans le cadre d'une collaboration entre M.T. Cousin et P.L. Maillet, des échantillons appartenant à des pervenches atteintes des trois maladies déjà citées, avaient été fixées pour la microscopie électronique. Nous avons, au début de 1968, réalisé l'étude ultrastructurale de ces échantillons de plantes malades en prenant plusieurs clichés du phloème. De leur interprétation réalisée en commun avec P.L. Maillet, nous avons retiré la conviction que ces plantes étaient parasitées par des mycoplasmes plutôt que par des organismes du type P.L.T. (Maillet, Gourret, Hamon, 1968; Gourret, Maillet, 1968).

Au Congrès International de Phytopathologie qui s'est tenu à Londres en juillet 1968, la confrontation des résultats obtenus par les laboratoires déjà mentionnés ainsi que ceux de Maramorosch et ses collaborateurs (1968), permettait de confirmer le changement radical intervenu dans l'interprétation étiologique des "jaunisses" végétales.

Après les premières découvertes, nous avons photographié en microscopie électronique, les mycoplasmes d'autres plantes malades : les mycoplasmes de *Convolvulus arvensis* L., une plante adventice des champs de lavandin atteints de dépérissement (en collaboration avec M.T. Cousin, J. P. Lacote et F. Leclant); les mycoplasmes de la virescence-phyllodie du cotonnier cultivé en Haute-Volta (en collaboration avec R. Delattre, R. Lagièrre, M.T. Cousin et P.L. Maillet); les mycoplasmes de la giroflée ornementale *Cheiranthus* (*Erysimum*) *allionii* Hort. var. Jaune Naine Safran (en collaboration avec M. Le Normand); plus récemment (en collaboration avec Triharso) les mycoplasmes de l'arachide *Arachis hypogaea* L. cultivée à Java et montrant une prolifération en "balai de sorcière". De plus, nous avons visualisé la présence de mycoplasmes parasites dans le phloème du trèfle violet *Trifolium pratense* L. montrant des phyllodies au niveau de l'inflorescence, d'*Anagallis arvensis* L. montrant une virescence-phyllodie-prolifération des fleurs, et de *Melandrium album* Garcke présentant ces mêmes symptômes.

Nous avons aussi cherché les interactions des mycoplasmes avec leurs cellules-hôtes. Les lésions caractéristiques déjà étudiées en microscopie photonique par Rasa et Esau (1961) et par Cousin (1967) ont pu être précisées au niveau ultrastructural (Gourret, 1970).

Nous avons également cherché à donner une interprétation cytologique des symptômes constatés au niveau des feuilles (jaunisse) et au niveau des pétales (virescence, formation de pétales verts) (Gourret, 1971 a et b).

Faisant suite à la lecture d'un travail de Ploaie (1971), l'observation fortuite de particules d'allure virale au voisinage des mycoplasmes de la phyllodie du trèfle tant dans la plante malade que dans l'insecte-vecteur (observations par P.L. Maillet et J. Gouranton) nous a permis -après lecture des travaux pionniers de Gourlay (1970) sur le premier virus découvert chez *Acholeplasma*- de présumer l'existence d'une infection virale chez les mycoplasmes des plantes (Gourret, Maillet, Gouranton, 1973).

Enfin, dans un travail en collaboration avec D. Thomas et P.L. Maillet, il a été démontré que des mycoplasmes de plantes peuvent incorporer de la thymidine tritiée (Gourret, Thomas, Maillet, 1974 b).

C'est l'ensemble de ces résultats que nous présentons dans les pages qui suivent.

Fleurs tératologiques de *Vinca rosea* L.

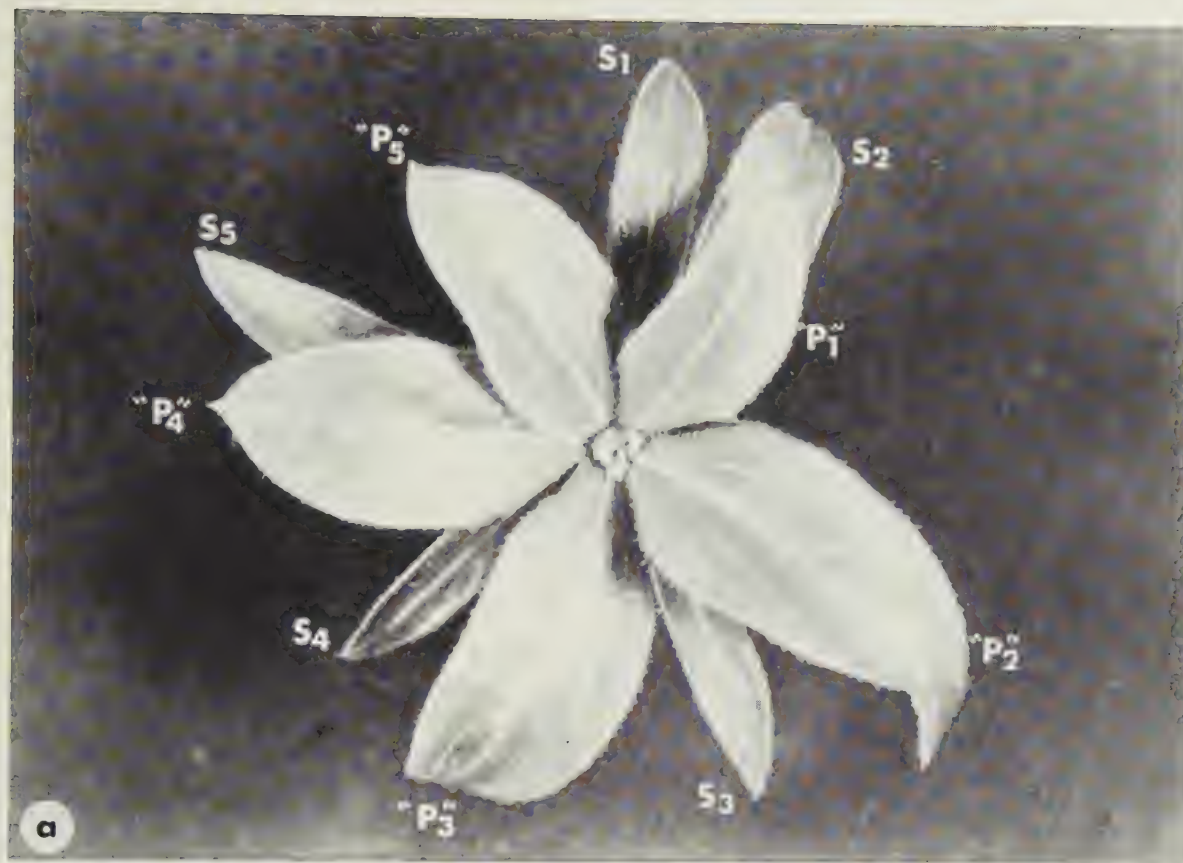
Le symptôme le plus significatif des mycoplasmoses végétales est l'apparition progressive de fleurs dont les caractéristiques florales sont de plus en plus atténuées alors que les caractéristiques foliaires, au contraire, s'accroissent. Le calice est souvent hypertrophié. La corolle perd de sa pigmentation normale, devient virescente puis franchement verte et les ébauches de pétales engendrent de vraies feuilles. Les étamines en général avortent ou se différencient en pièces diplophylles. Les ovules avortent et les ébauches de carpelles peuvent se développer en vraies feuilles. En fin de processus l'insertion des pièces se modifie et des bourgeons apparus à leur aisselle peuvent donner naissance à des rameaux feuillés. La plante qui fleurissait au début de l'infection par les mycoplasmes est revenue à l'état végétatif. Cependant les rameaux formés sont grêles et quelquefois groupés en "balais-de-sorcières".

Les deux photographies, ci-contre, donnent une idée des symptômes décrits plus haut, bien que le noir-et-blanc fournisse une image appauvrie de la réalité. Dans la photographie (a) on distingue les 5 sépales hypertrophiés, les 5 pièces ("P") qui ont la position de pétales mais sont de vraies feuilles par leur structure anatomique et leur couleur verte témoignant de la présence de chlorophylle dans les plastes. Au centre se trouvent des étamines avortées.

Dans la photographie (b), les pièces du périanthe et le pistil modifié ont été enlevés pour mieux montrer les 5 "étamines" diplophylles. Dans ces "étamines" évidemment stériles et de couleur verte les deux loges polliniques sont ouvertes. En coupe transversale ces pièces ont donc la forme d'un $\times$, d'où le qualificatif de diplophylle.

Les deux "fleurs" (a et b) proviennent d'une pervenche de Madagascar (*Vinca rosea* L) infectée par les mycoplasmes de la phyllodie du trèfle (transmission initiale d'un trèfle malade à une pervenche saine au moyen de l'insecte vecteur *Euscelis lineolatus* Brullé puis greffage en fente sur d'autres pervenches pour le maintien de la souche).

(clichés B. Morille et J.P. Gourret, non publiés)



Cette photographie contient les principales informations qui permettent de reconnaître une mycoplasmosse végétale par l'étude ultrastructurale du phloème. On y distingue en effet :

1° - un crible permettant de dire que les cellules adjacentes sont des tubes criblés (T); ceux-ci contiennent des cellules procaryotiques sans paroi : les mycoplasmes.

2° - dans le coin en bas à gauche, plusieurs cellules du phloème, dégénérées et collapsées (Cn), contiennent des éléments du même ordre de grandeur que les précédents, et de la callose en quantité anormalement élevée (*).

3° - autour du phloème, des cellules appartenant au parenchyme cortical (par. cort.) ne montrent aucun signe d'altération pathologique au niveau ultrastructural.

La photographie a été réalisée au début de l'année 1968 à partir de matériel préparé par M.T. Cousin et P.L. Maillet. Comme des travaux antérieurs avaient montré une altération spécifique du phloème des plantes atteintes, il était logique d'attribuer la maladie à la présence des parasites, décelés dans les tubes criblés puisque des plantes saines servant de témoins ne contiennent pas de tels éléments.

Il s'agit ici d'une coupe transversale d'un faisceau de phloème externe d'un pédoncule floral de *Vinca rosea* L. infectée par les mycoplasmes de la phyllodie du trèfle.

(P.L. Maillet, J.P. Gourret, C. Hamon, *C. R. Acad. Sci.*, 270, 731-733, 1968)

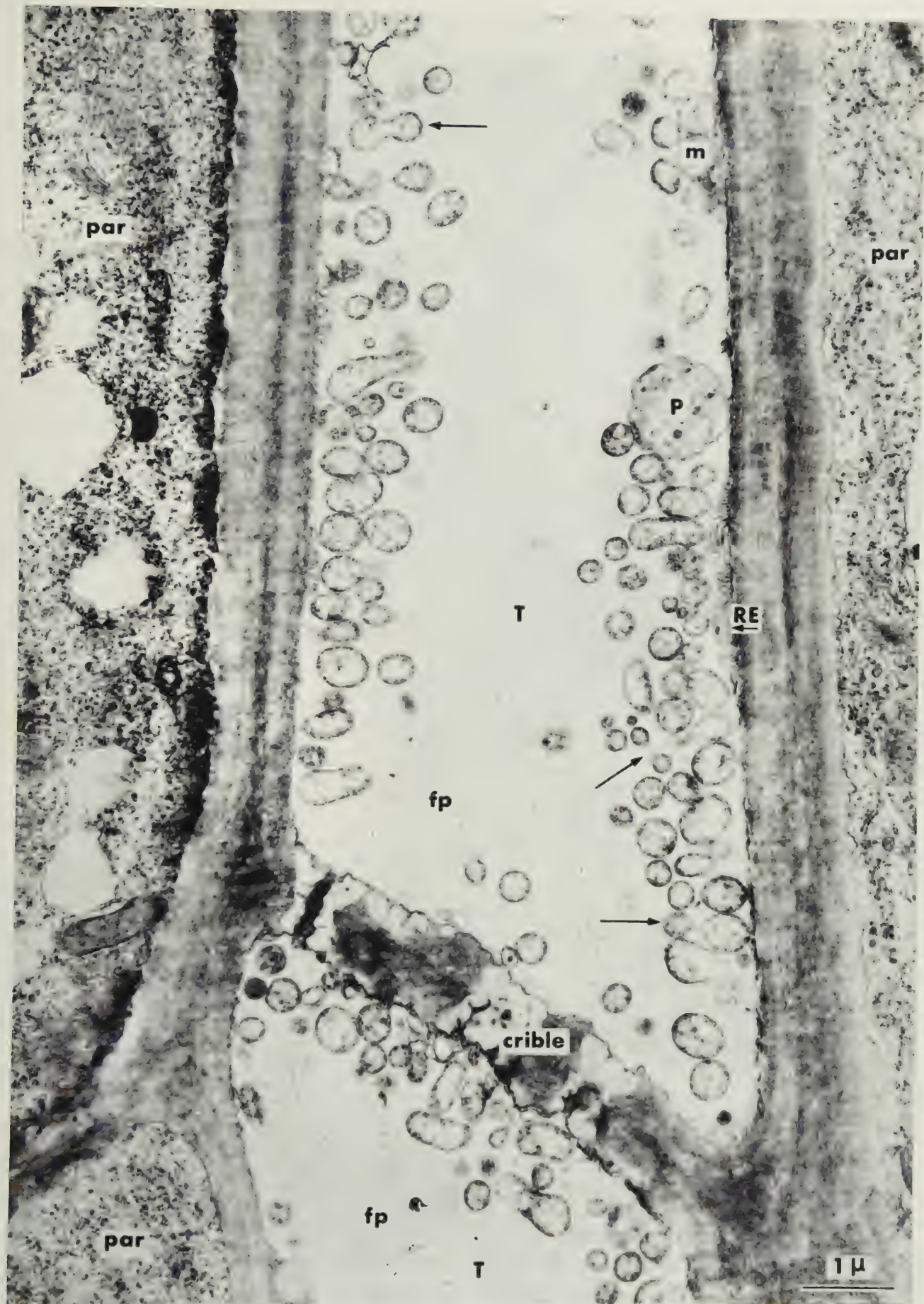


Coupe longitudinale de deux tubes criblés successifs.

Le crible, ici encore reconnaissable, permet d'identifier, sans erreur, des tubes criblés. Les mycoplasmes sont répartis dans la lumière des tubes et d'une manière préférentielle à leur périphérie parmi les restes cytoplasmiques caractéristiques de ce type cellulaire comme les plastes (P), des empilements de membranes provenant du reticulum (RE), des mitochondries (m) et un réseau de fibres protéiques (fp). Les cellules parenchymateuses (par) qui sont ici visibles de part et d'autre des tubes criblés, ne montrent aucune altération pathologique et ne semblent pas contenir de mycoplasmes. Corrélativement, les mycoplasmes sont homogènes du point de vue structural. Certains d'entre eux, indiqués par des flèches, montrent un étranglement médian qui figure peut-être une image de division. Mais, étant donnée la déformabilité des mycoplasmes liée à l'absence de paroi, il se peut aussi qu'il s'agisse seulement d'un étranglement temporaire de la cellule, voire même d'une fusion entre deux cellules. La microscopie électronique d'un matériel fixé, si elle n'est pas appuyée par d'autres techniques, ne permet pas de trancher entre ces trois hypothèses (bien que la première soit la plus vraisemblable).

Coupe longitudinale du filet d'une étamine de giroflée virescente (*Cheiranthus (Erysimum) allionii* Hort.).

(J.P. Gourret, *J. Microscopie*, 9, 807-822, 1970)



Mycoplasmes dans la lumière d'un tube criblé et dans le hyaloplasme d'une cellule associée.

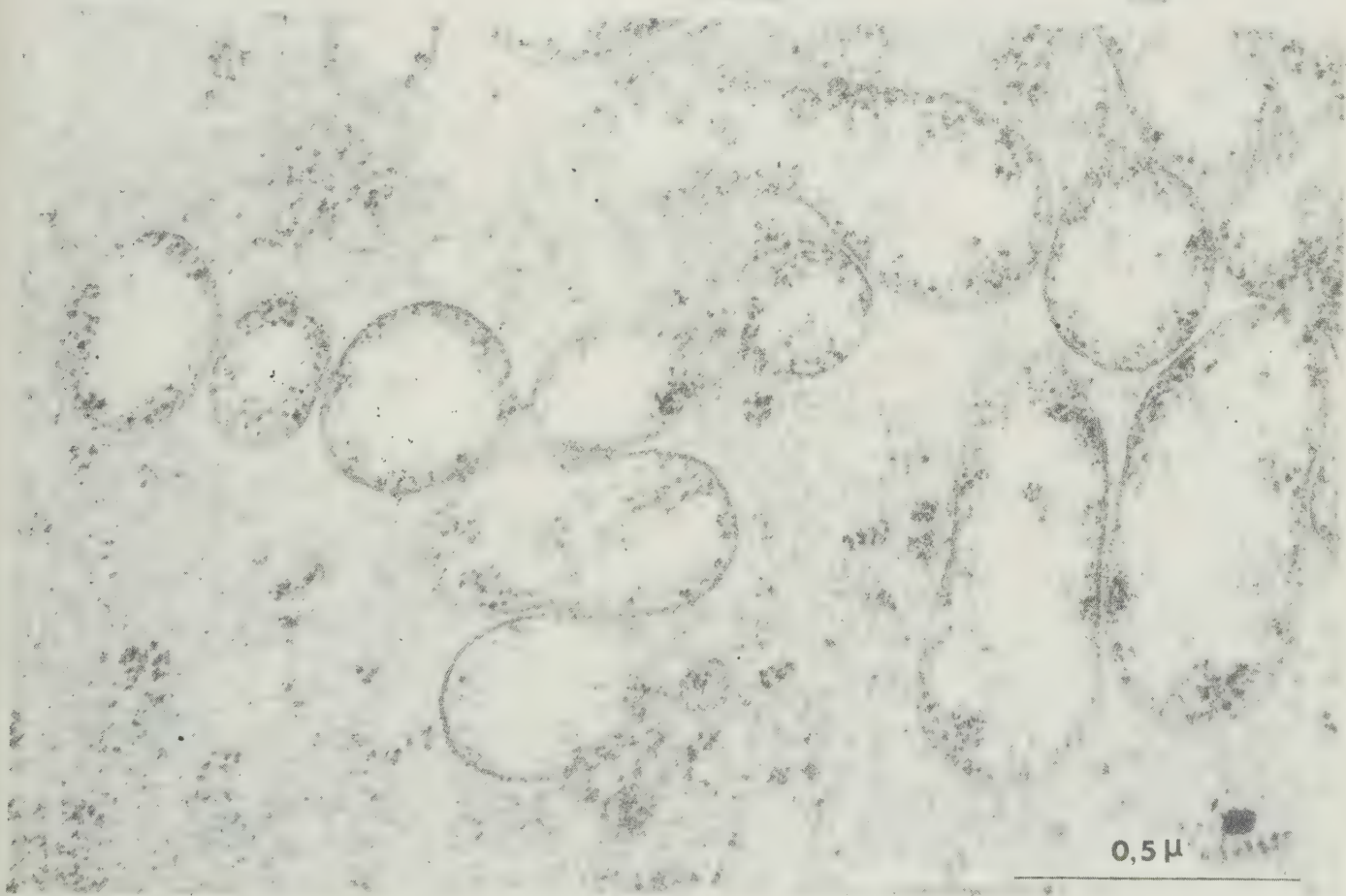
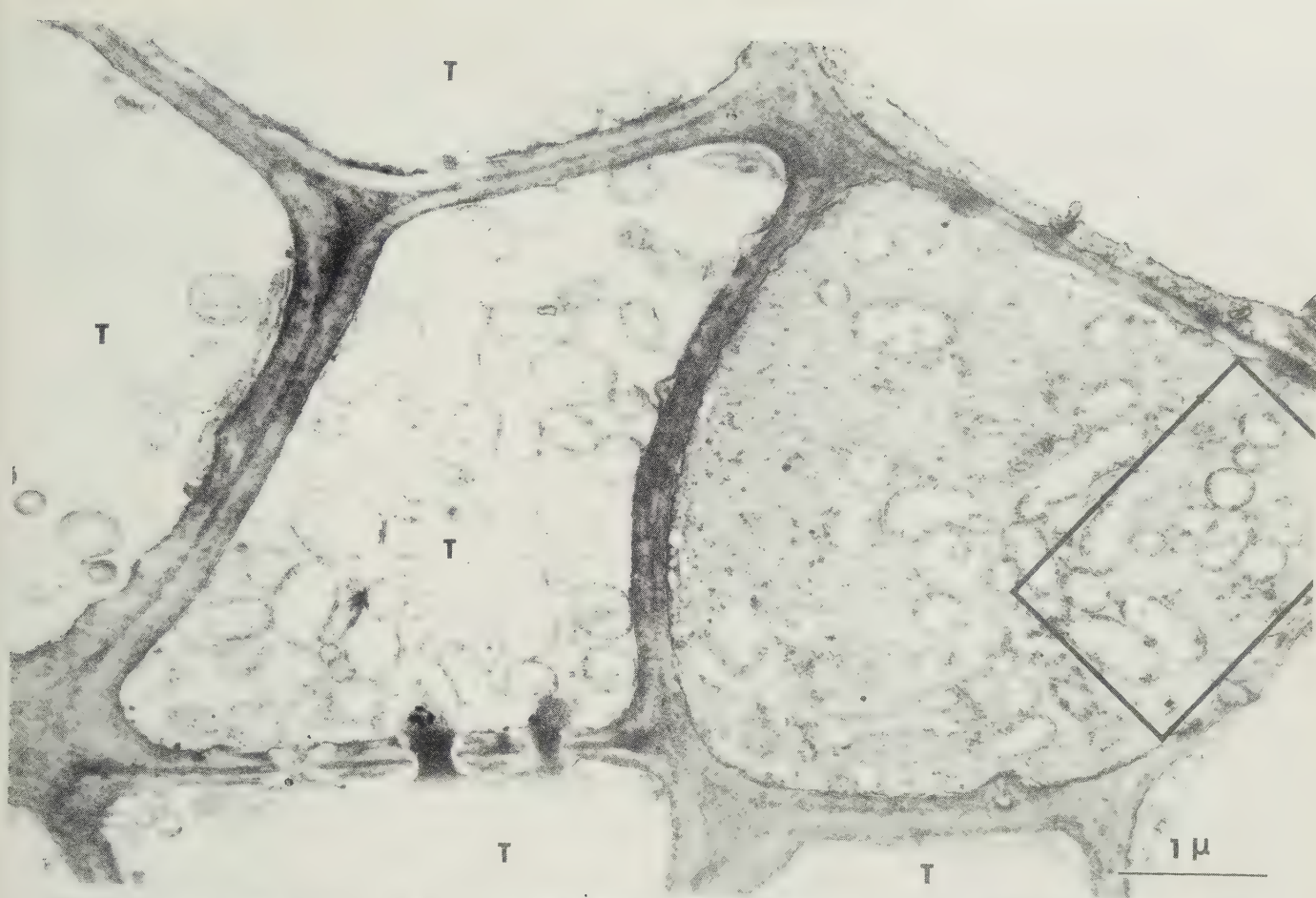
Dans la photographie (a) on observe à la fois des mycoplasmes dans les tubes criblés (T) et dans une cellule de parenchyme phloémien associée aux tubes. Cette cellule de parenchyme est sans doute une cellule-compagne mais une tendance récente, justifiée par la microscopie électronique, consiste à ne plus séparer ces deux types cellulaires aussi nettement que par le passé (Esau 1971).

La photographie (b) est un agrandissement d'une portion de la photographie (a). Elle permet de constater que les mycoplasmes sont en contact direct avec le hyaloplasme de leur cellule-hôte. Dans celle-ci des polysomes sont visibles.

Les mycoplasmes ont une taille et une structure interne relativement homogènes; corrélativement les cellules-hôtes ne montrent pas de signes de dégénérescence.

Coupe transversale d'un faisceau de phloème de *Vinca rosea* L. infecté par les mycoplasmes de la phyllodie du trèfle.

(originaux non publiés)



La forme la plus fréquente est celle de globules quasi-sphériques ou ovoïdes (fig. a et b). La taille modale est d'environ 0,4 micron. Cependant cette forme globuleuse ("coccoïde") peut s'observer en même temps qu'une forme filamenteuse ("mycoïde") de diamètre beaucoup plus faible (fig. a). Cette dernière forme est rare. A fort grossissement (fig. c et d) la microscopie électronique permet de déceler trois (et seulement trois) constituants fondamentaux dans les mycoplasmes phytopathogènes : 1) la membrane plasmique limitant la cellule a une structure trilaminaire caractéristique d'une membrane unitaire; 2) les ribosomes en position périphérique dans la cellule; 3) le DNA condensé en un nucléoïde au centre de la cellule. Dans le cas présent ce DNA est coagulé à la suite des processus de préparation et particulièrement de la déshydratation du matériel qui précède son inclusion.

Coupes longitudinales (a et b) et transversales (c et d) dans du phloème de giroflée virescente (*Cheiranthus (Erysimum) allionii* Hort.).

(J.P. Gourret, *Colloque International sur les Mycoplasmes. Bordeaux. 11-17 sept. 1974*, p. 215-222)

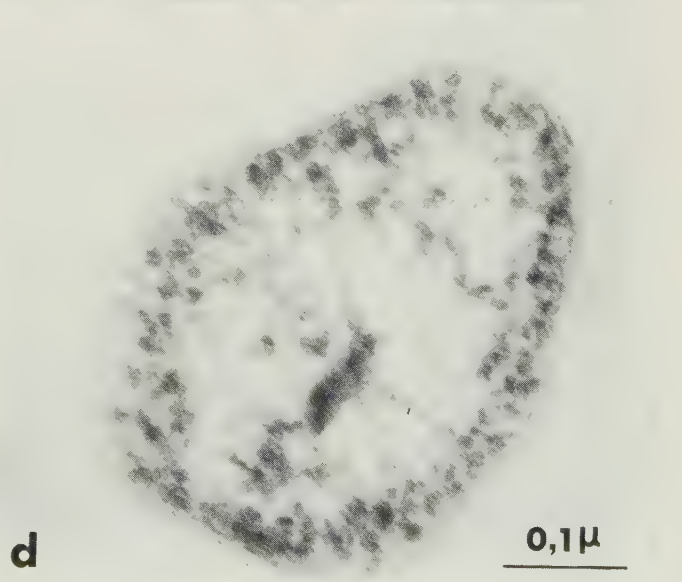
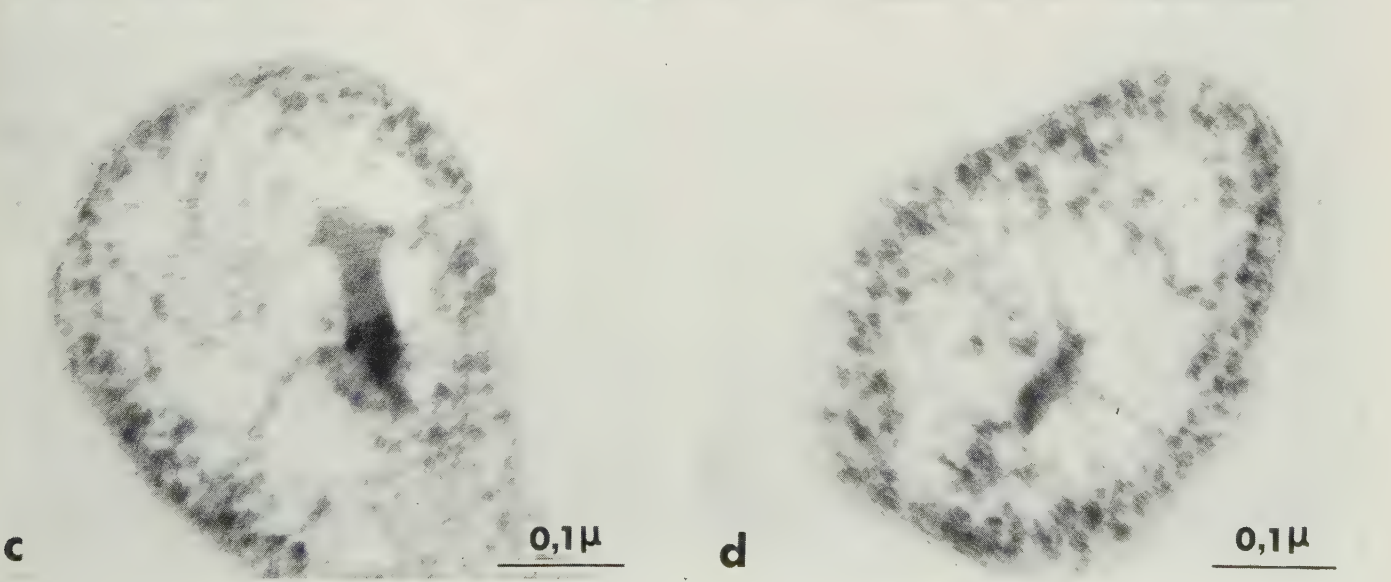
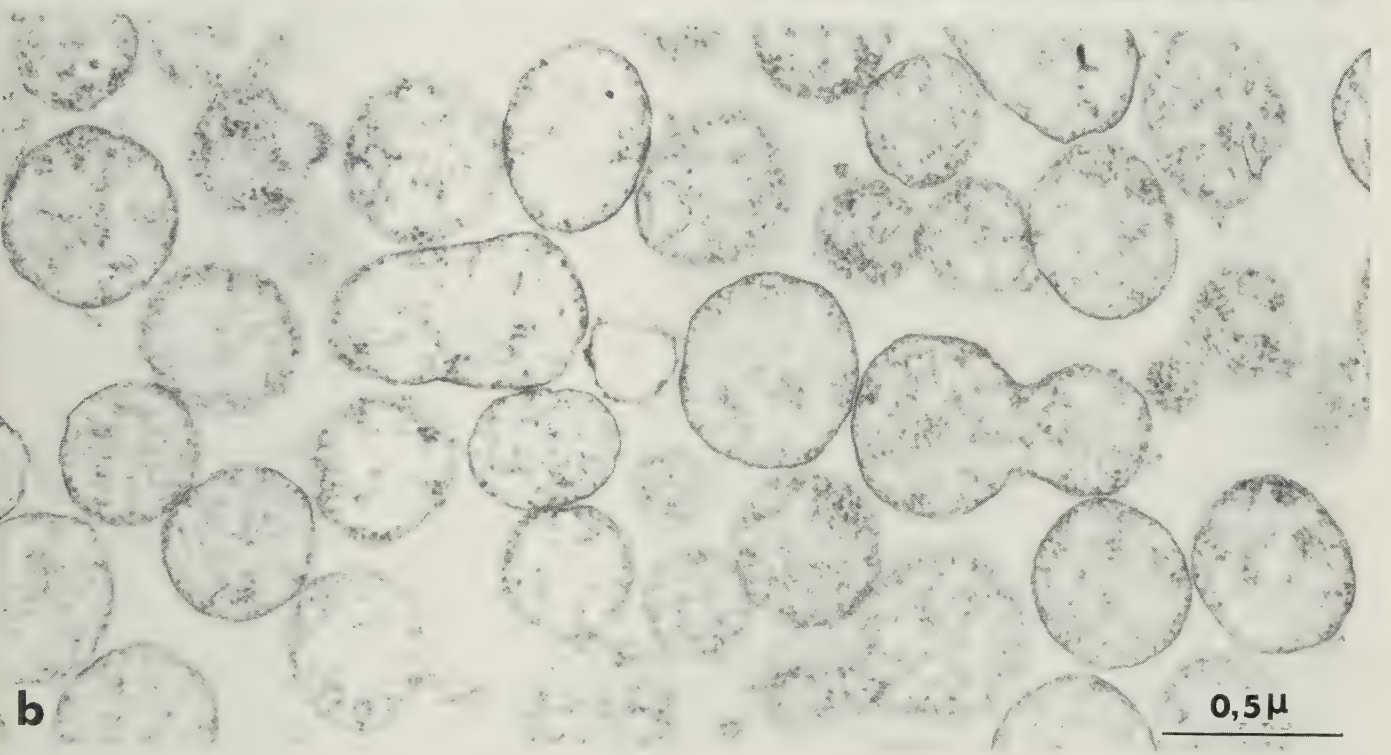
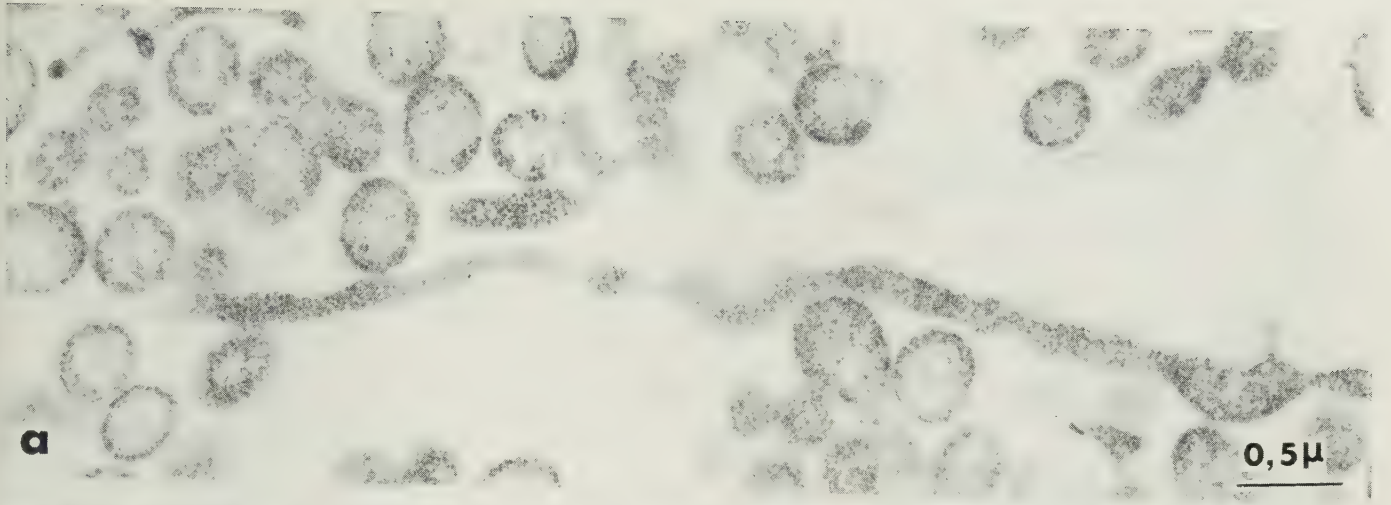


Fig. a - Mycoplasmes d'une phyllodie de *Trifolium repens* L., transmis chez *Vinca rosea* L. par *Euscelis lineolatus* Brullé. Coupe de phloème de *Vinca rosea* L.

Fig. b - Mycoplasmes d'une phyllodie naturelle de *Trifolium pratense* L., observés dans le phloème d'une feuille résultant de la phyllodie du carpelle (feuille carpellaire).

Fig. c, d et e - Ces images, correspondant à des mycoplasmes de la phyllodie du trèfle observés chez *Vinca rosea* (fig. c et d) ou aux mycoplasmes des germes fins du glaïeul observés également chez *Vinca rosea* (Fig. e), permettent de résoudre le problème de la "vacuole" observée chez certaines cellules de mycoplasmes. Selon toute vraisemblance il n'y a pas de vacuole à l'intérieur des mycoplasmes mais seulement une invagination artefactique de la membrane plasmique. Cette pseudo-vésicule reste attachée à la membrane plasmique et en s'affaissant sur elle-même elle engendre un profil membranaire comme celui qui est désigné par une flèche dans la figure (e). Se trouvant ainsi au centre de la cellule elle est naturellement en contact avec le DNA. Fooke-Achterrath et coll. (1974) ont d'ailleurs montré chez *Staphylococcus aureus* que certains mésosomes désignés sous le nom de "technicosomes" résulteraient d'une déficience dans les processus de fixation. Il en est sans doute de même ici, pour ces pseudo-mésosomes.

Fig. f - Mycoplasmes des germes fins du glaïeul observés chez *Vinca rosea* L.

Fig. g - Mycoplasmes du stolbur de la tomate observés chez *Nicotiana tabacum* L. var. *xanthii*.

(Fig. a, b, c, d, e: originaux non publiés)

(Fig. f, g : P.L. Maillet, J.P. Gourret, C. Hamon, *C. R. Acad. Sci.*, 270, 731-733, 1968)

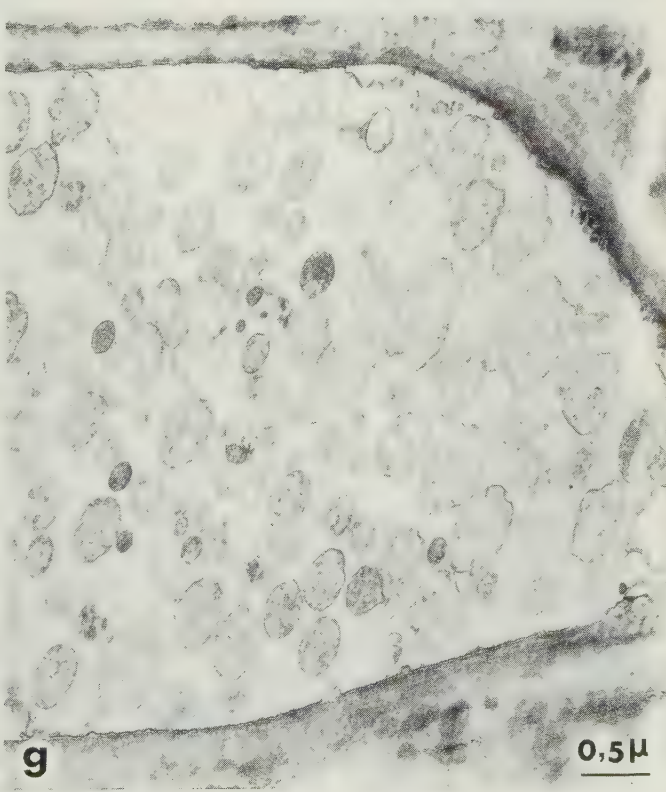
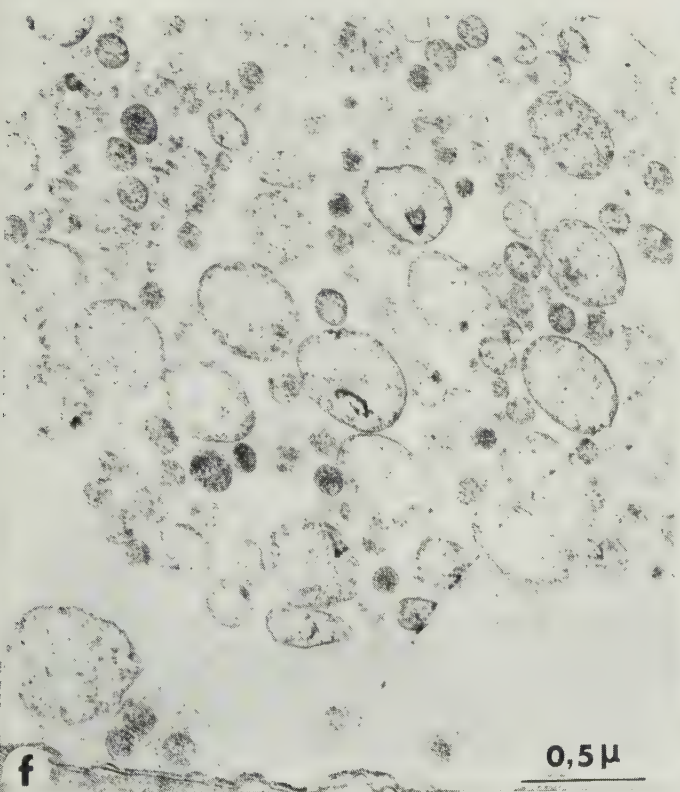
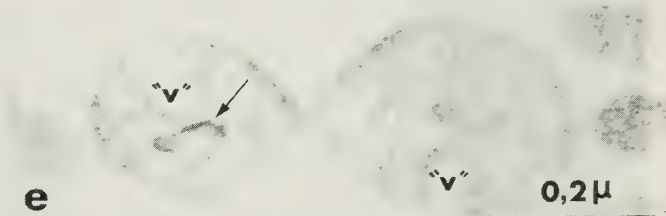
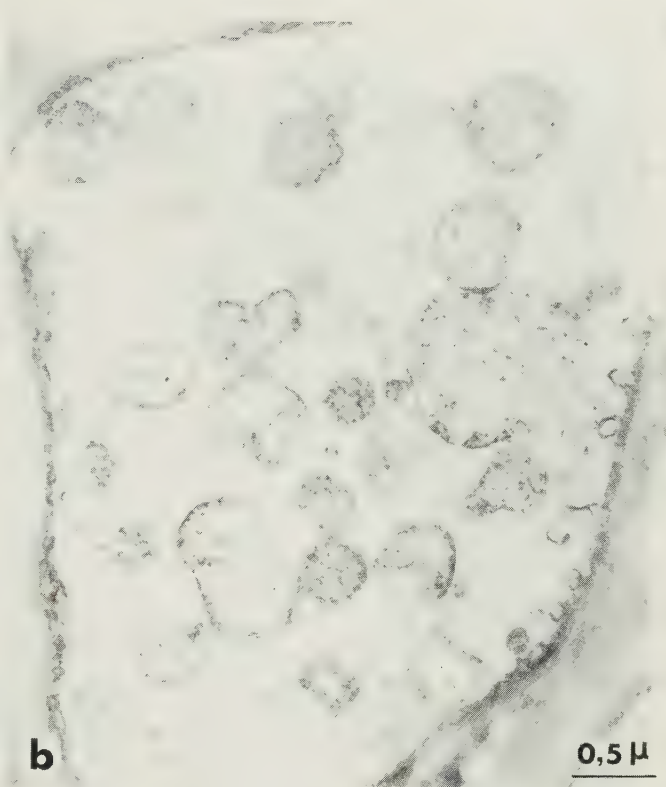
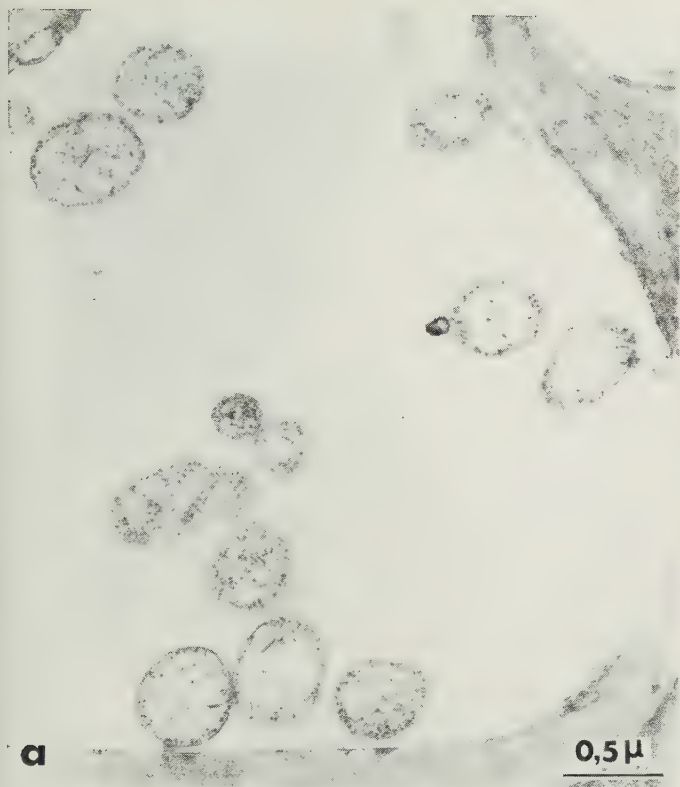


Fig. a - Mycoplasmes d'une virescence - phyllodie de *Melandrium album* Garcke.
Coupe transversale d'un pédoncule floral.

Fig. b - Mycoplasmes d'une virescence - phyllodie d'*Anagallis arvensis* L.
Coupe oblique d'un pédoncule floral.

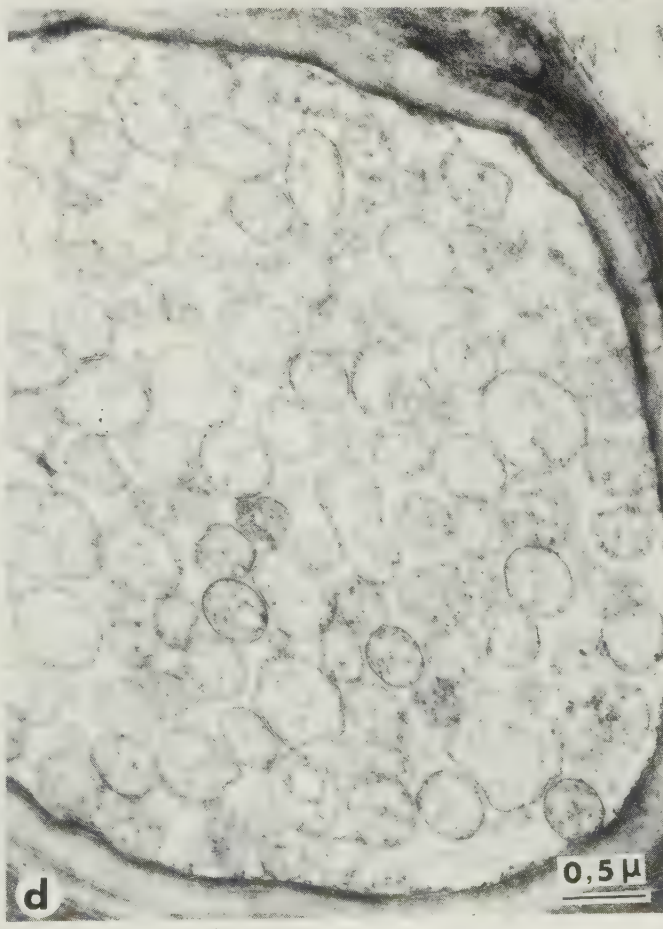
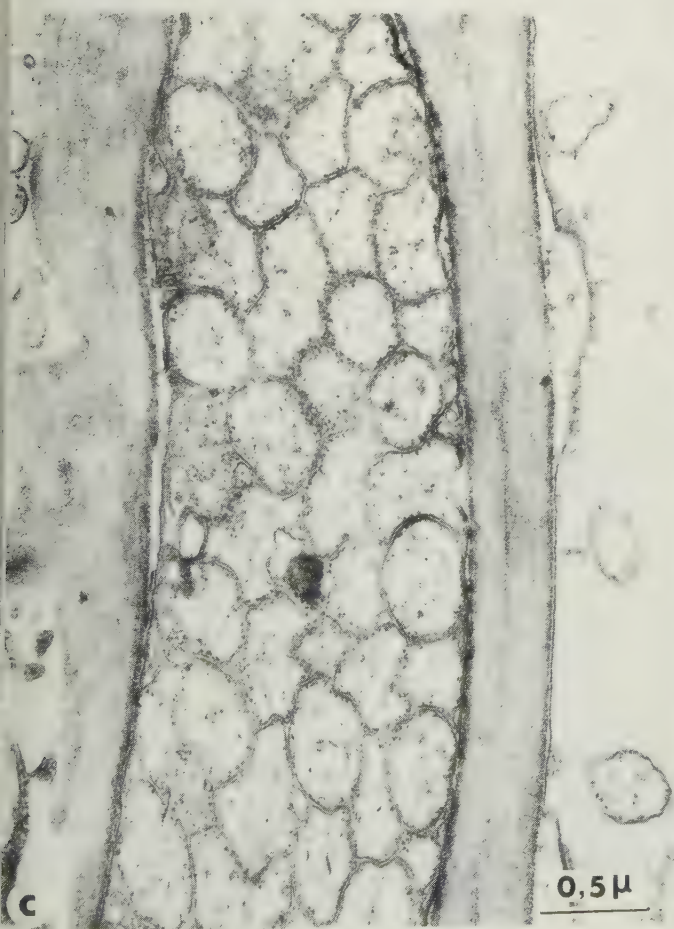
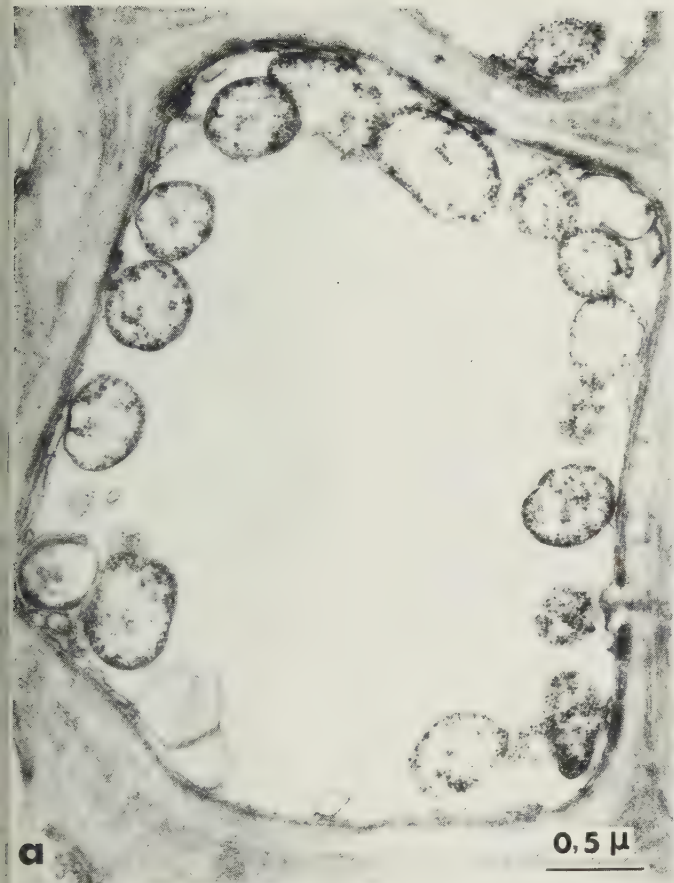
Fig. c - Mycoplasmes de la virescence du cotonnier *Gossypium hirsutum* L.
Coupe oblique d'un pédoncule floral.

Fig. d - Mycoplasmes du balai de sorcière de l'arachide *Arachis hypogea* L.
Coupe transversale de la nervure principale d'une feuille.

(Fig. a, b : originaux non publiés)

(Fig. c : J.P. Gourret, P.L. Maillet, *Cot. Fib. Trop.*, 24, 325-326, 1969)

(Fig. d : J.P. Gourret, Triharso, *C. R. Acad. Sci.*, à paraître, 1975)



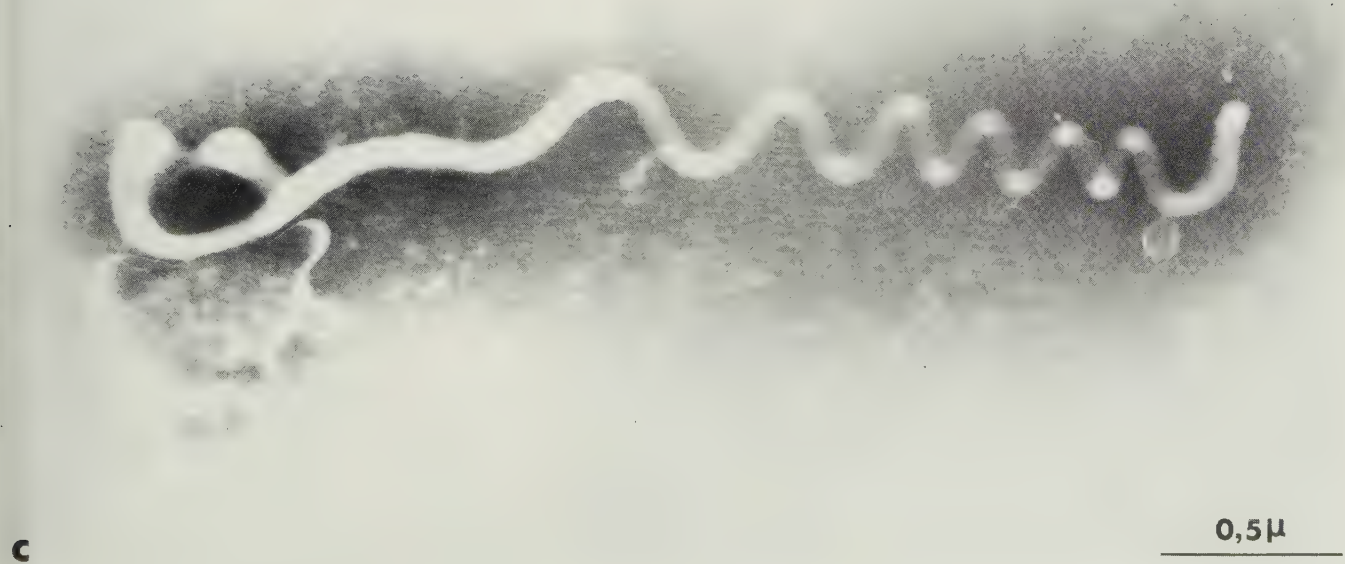
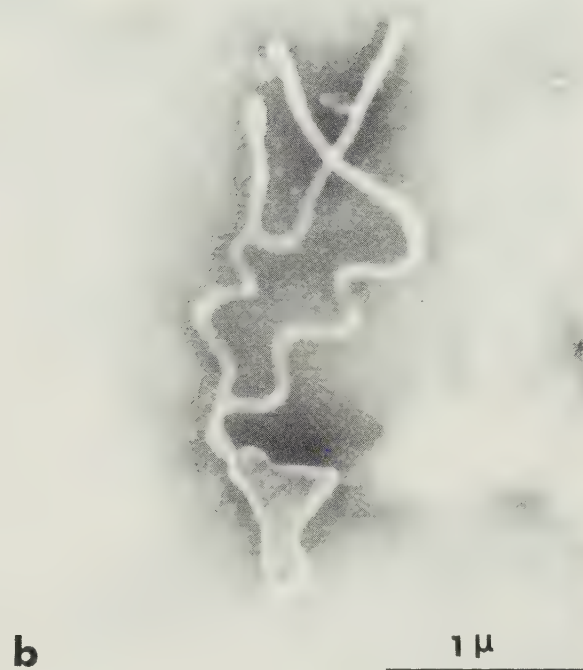
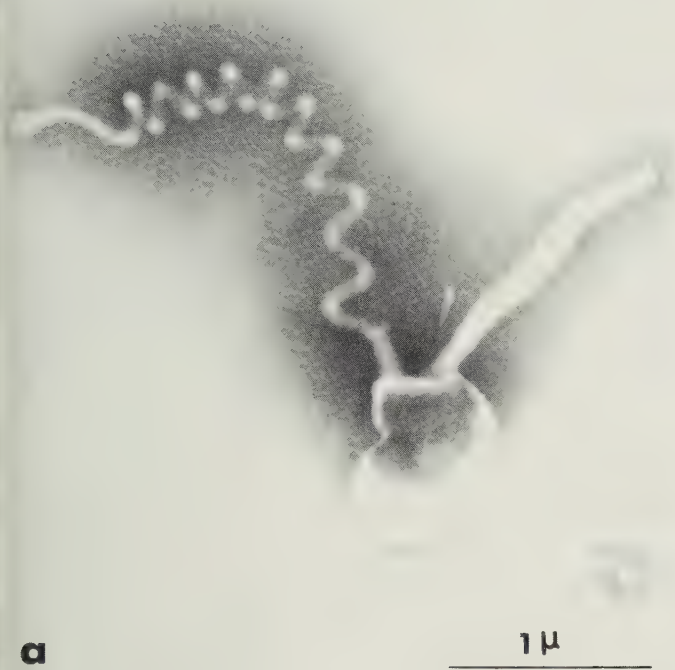
Les spiroplasmes sont des mycoplasmes (c'est-à-dire des procaryotes sans paroi) caractérisés par leurs filaments hélicoïdaux.

Les spiroplasmes sont connus chez le maïs où ils provoquent un rabougrissement des plants infectés (Davis et coll. 1972, Davis et Worley, 1973) et chez les agrumes où ils sont à l'origine d'une maladie connue sous le nom de "stubborn" (Laflèche et Bové, 1970; Igwegbe et Calavan, 1970). Ces spiroplasmes ont pu être isolés, cultivés (Saglio et coll. 1971; Fudl-Allah et coll. 1972), caractérisés (Cole et coll. 1973; Saglio et coll. 1974) et réinoculés à des plantes (Markham et Townsend, 1974). Des spiroplasmes seraient aussi responsables d'une modification de la descendance de certaines drosophiles femelles (élimination des mâles) (Williamson et Whitcomb, 1974).

La cellule que constitue le spiroplasma peut être totalement filamenteuse ou bien être formée d'un "corps cellulaire" globuleux d'où partent un ou plusieurs filaments hélicoïdaux, ramifiés ou non.

Les trois spiroplasmes ci-contre proviennent de la souche originale de Saglio et coll. (1971) extraite du *Citrus sinensis* (L.) Obs. Ils sont observés ici en coloration négative, au microscope électronique. Une goutte de spiroplasmes dans un tampon est d'abord déposée sur une grille préalablement collodionnée. Le film de collodion constitue le support transparent sur lequel vont se fixer quelques spiroplasmes. On augmente ensuite le contraste en déposant autour des objets à étudier (ici les spiroplasmes) une solution de phospho-molybdate d'ammonium opaque aux électrons.

(clichés H. Wroblewski et D. Thomas, non publiés)



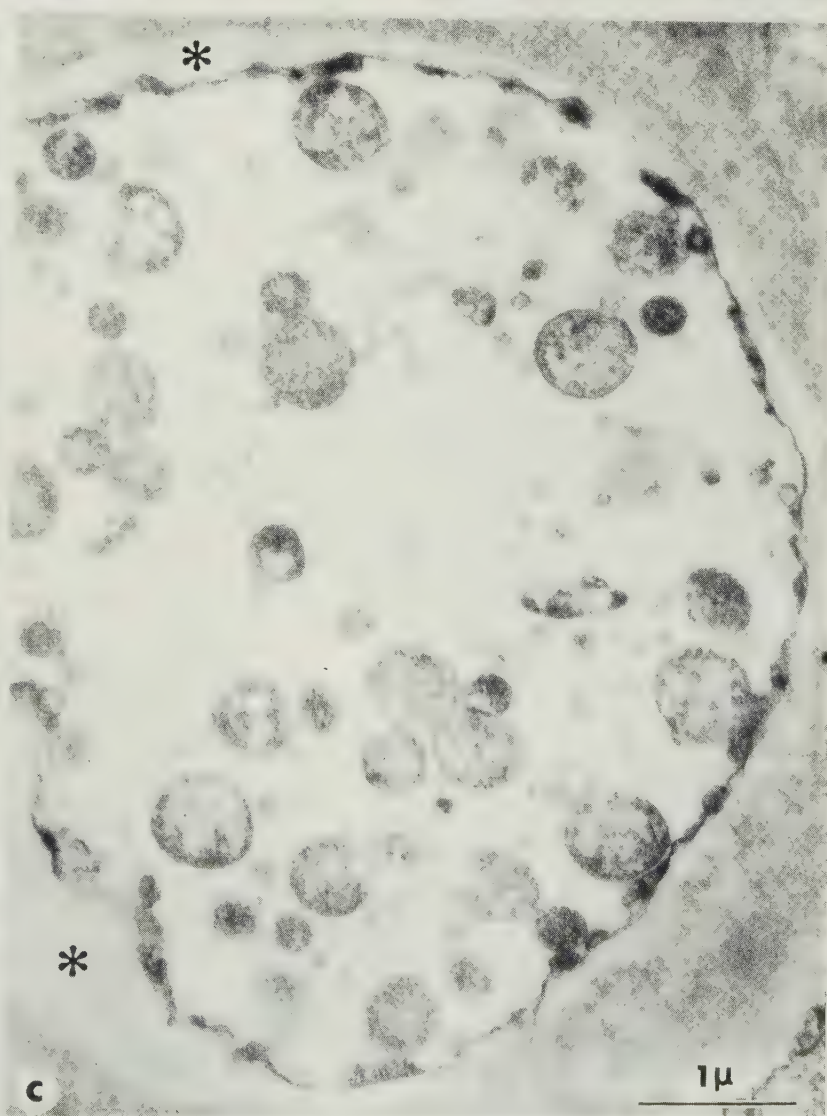
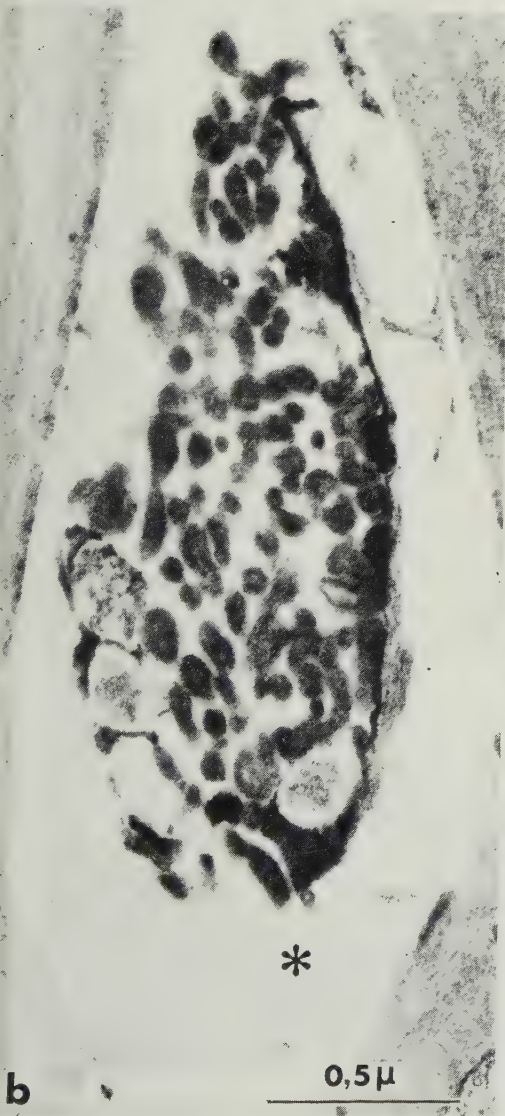
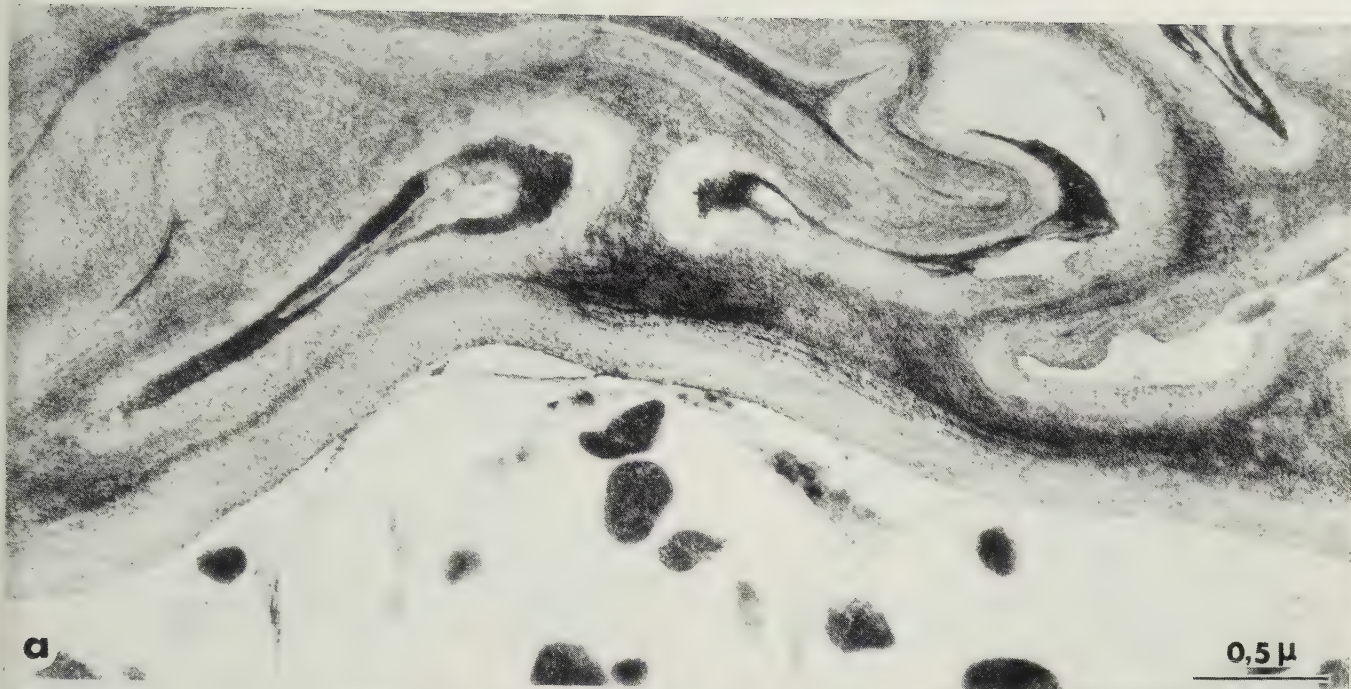
Dans la plupart des cas d'infection importante et prolongée d'une plante par des mycoplasmes, le phloème infecté présente des altérations irréversibles des tubes criblés et de certaines cellules associées. Les tubes criblés perdent leur turgescence et leur squelette cellulosique s'affaisse, vraisemblablement sous la pression des cellules adjacentes qui demeurent provisoirement saines. L'affaissement des parois amène leur juxtaposition et la formation de nappes cellulosiques parfois épaisses de plusieurs microns (Fig. a). Dans certains cas seules quelques cellules isolées semblent avoir subi une plasmolyse irréversible faisant vraisemblablement suite à une dégradation de leur plasmalemma. Une quantité anormalement élevée de callose s'est également formée (Fig. c et d). (*).

Corrélativement à ces altérations, les mycoplasmes montrent des signes de dégénérescence. Ils peuvent devenir très denses aux électrons (Fig. a et b) en même temps que leur taille diminue sensiblement. Ils peuvent aussi devenir très hétérogènes du point de vue de leur contenu cellulaire et de leur taille (Fig. c). Il se forme alors de nombreuses microparticules résiduelles par un phénomène analogue à un bourgeonnement (Fig. c).

(Fig. a, J.P. Gourret, *J. Microscopie*, 9, 807-822, 1970)

(Fig. b, M.T. Cousin, P.L. Maillet, J.P. Gourret, *C. R. Acad. Sci.*, 268, 2382-2384, 1969)

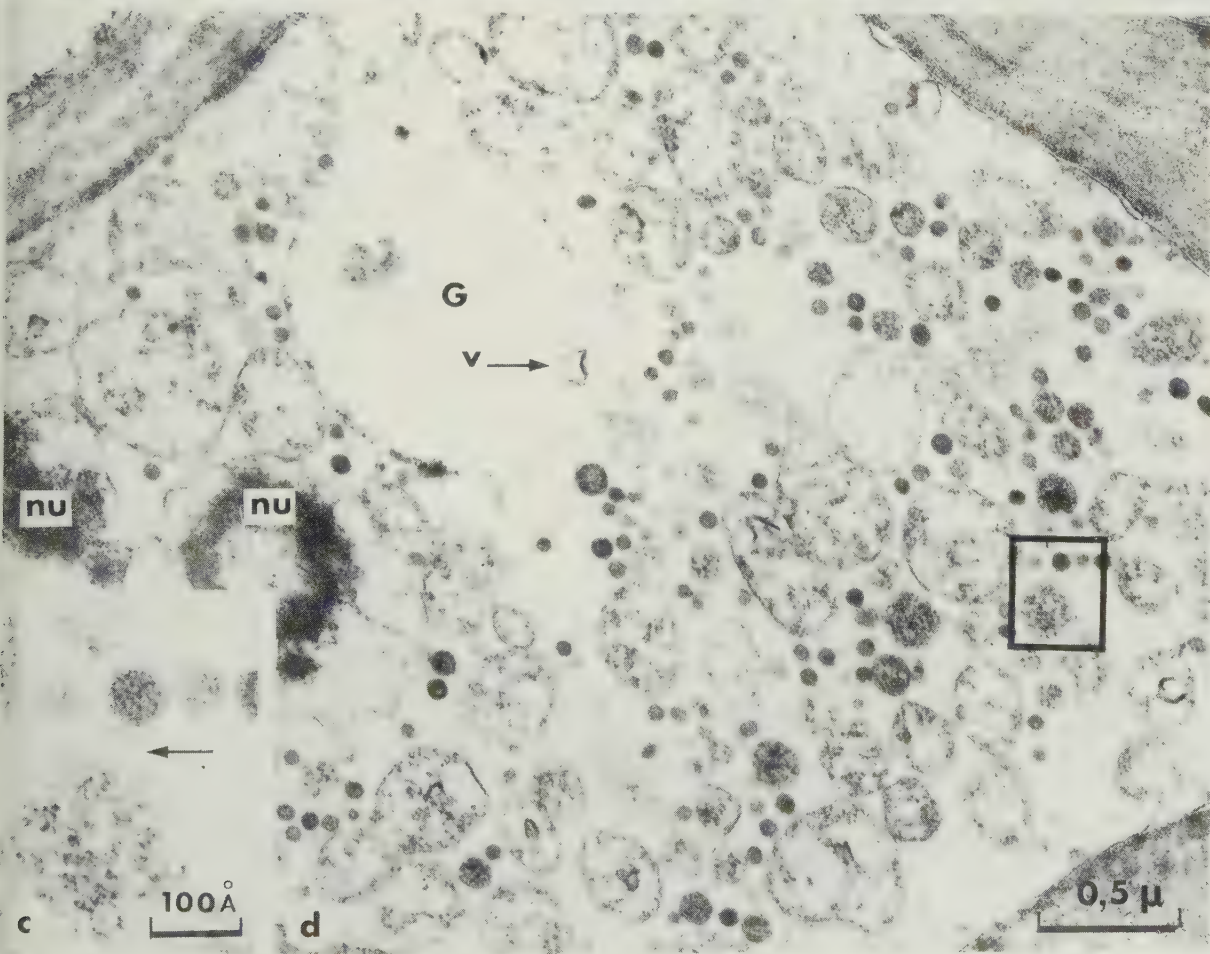
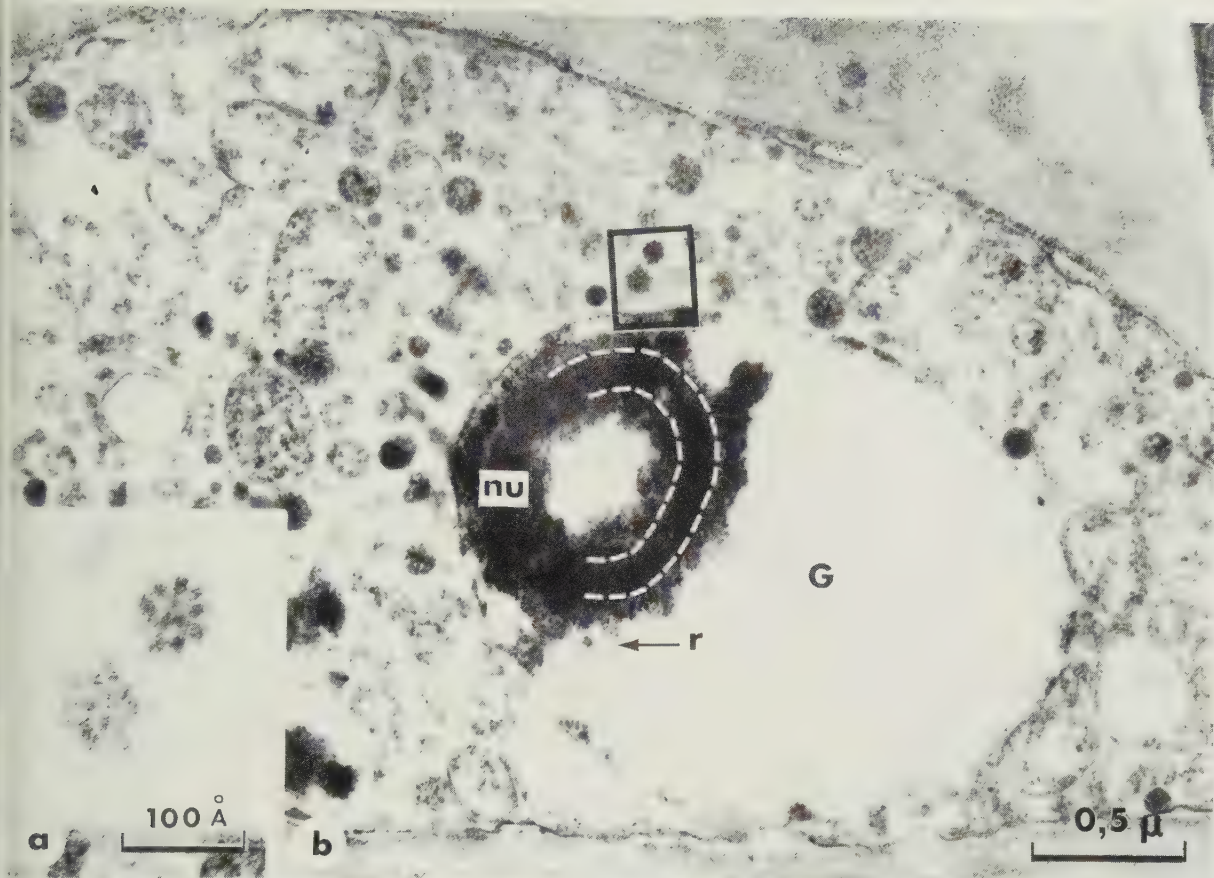
(Fig. c, original non publié)



Les deux photographies ci-contre concernent des mycoplasmes de la phyllodie du trèfle inoculés à *Vinca rosea* L. Il s'agit d'une infection prolongée et les cellules considérées étaient proches d'une zone de phloème nécrosé. Les mycoplasmes -ou ce qu'il en reste- sont extrêmement hétérogènes tant du point de vue de la taille que du point de vue de leur contenu. Les formes géantes (G) ont jusqu'à 2μ de diamètre. Leur contenu semble s'être détruit et l'on n'y décèle plus qu'un anneau dense aux électrons, entouré de granules de la taille des ribosomes (r). Une vésicule membranaire (v) analogue à celle qui a été décrite dans la Planche 6, peut être appendue à la face interne de la membrane plasmique. Les cellules de taille moyenne pourraient être viables. Par contre, il est peu vraisemblable que les formes géantes et les microparticules le soient. Ces dernières peuvent contenir des granules qui s'apparentent aux ribosomes (Fig. a) mais il est douteux qu'elles possèdent un génome leur permettant de se reproduire. Elles semblent naître par bourgeonnement (Fig. c).

Par analogie avec le nucléoïde des bactéroïdes des nodules de l'arachide, on peut penser que l'amas dense des formes géantes représente un nucléoïde qui aurait la forme d'une cupule. Les ribosomes resteraient attachés à ce nucléoïde volumineux (nu) qui représenterait le génome condensé polyploïde de ces formes géantes et sénescents.

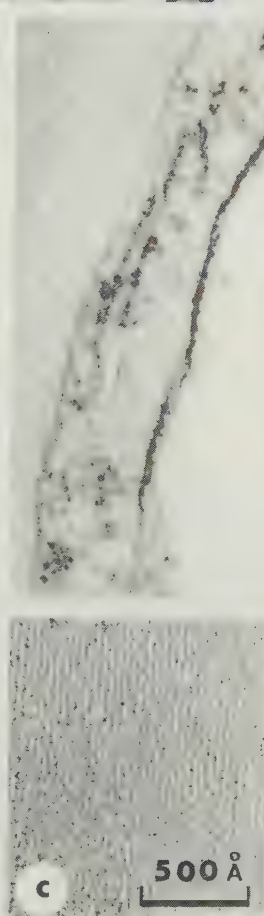
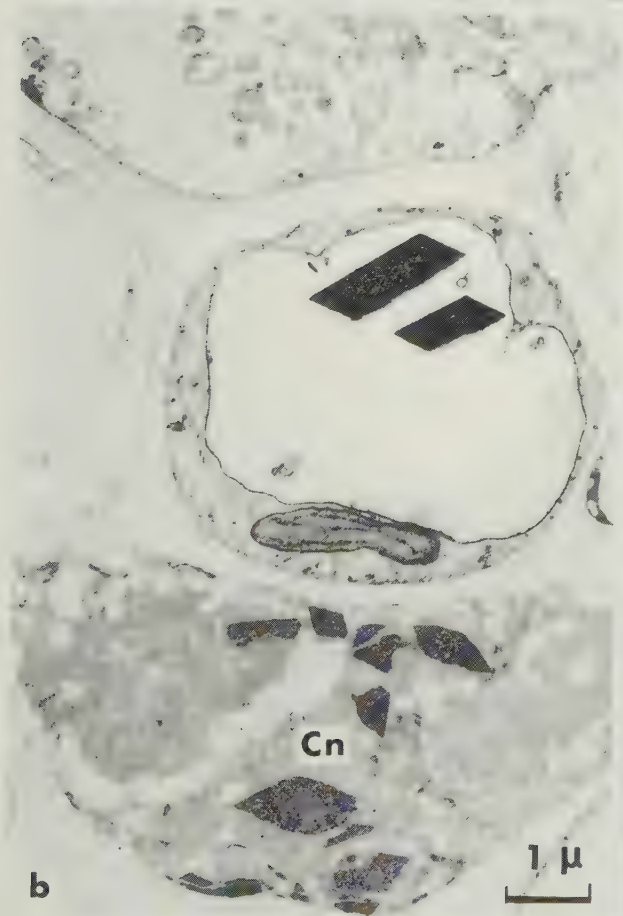
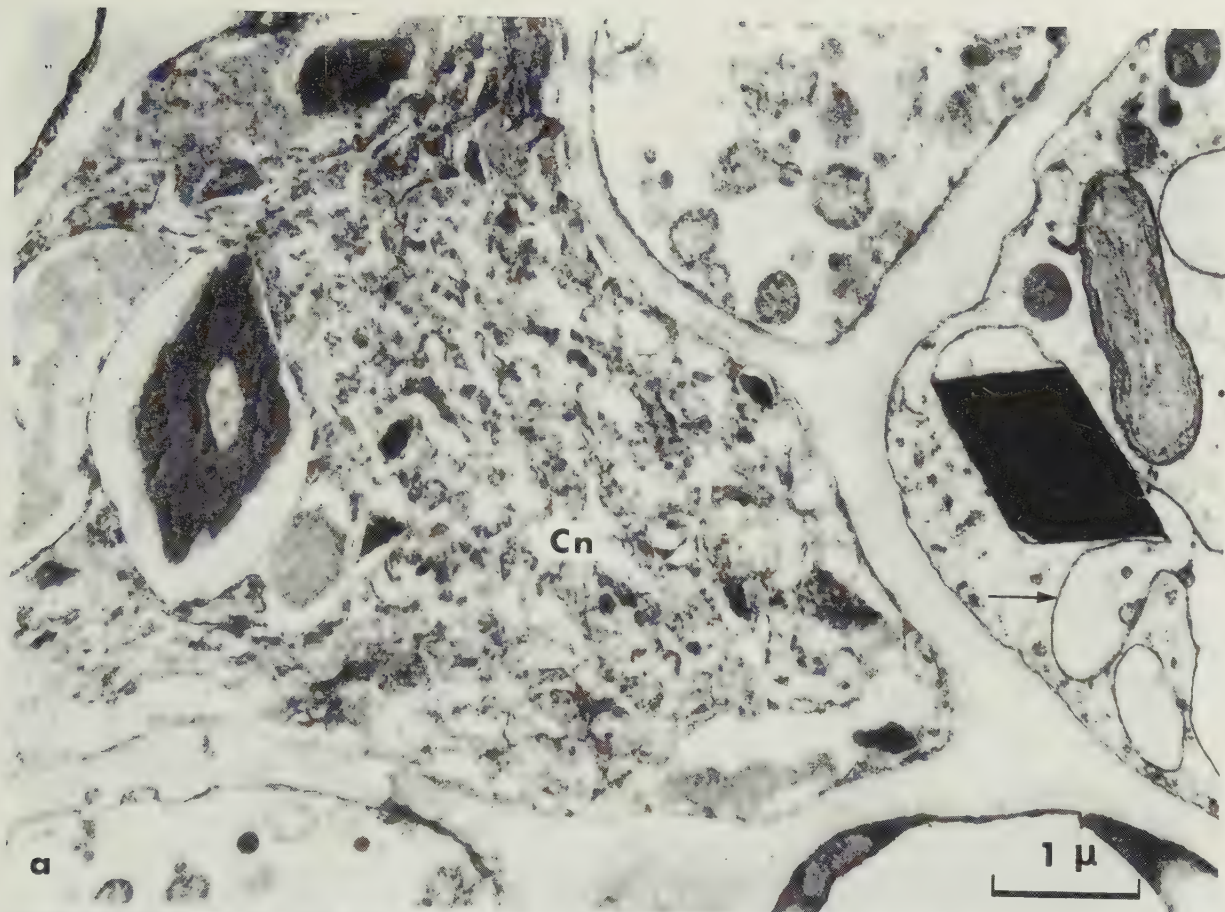
(J.P. Gourret, *J. Microscopie*, 9, 807-822, 1970)



Forme, localisation, ultrastructure

Les faisceaux de phloème infectés par des mycoplasmes peuvent contenir, avant l'apparition de toute autre modification pathologique du phloème, des baguettes cristallines que l'on voit en coupe longitudinale ou en coupe transversale et qui apparaissent dans le reticulum endoplasmique ou les vacuoles des cellules du parenchyme, voisines des tubes criblés infectés (Fig. a, b et d). La striation cristalline de ces baguettes n'est que rarement visible (Fig. c). La distance qui sépare le milieu de deux bandes successives est de l'ordre de 35 Å. Ces cristaux persistent lorsque, plus tard, les cellules parenchymateuses qui les contenaient se nécrosent (Cn) (Fig. a et b). Noter dans la Fig. a, la membrane du reticulum qui entoure le cristal.

(J.P. Gourret, *J. Microscopie*, 9, 807-822, 1970)



Digestion par des protéases

Pour vérifier leur nature -présumée protéique- les cristaux ont été soumis à l'action d'enzymes protéolytiques (pronase et pepsine) selon la technique utilisée par Anderson et André (1968). Les pièces fixées au glutaraldéhyde et à l'osmium puis incluses dans l'épon, permettent d'obtenir des coupes fines recueillies sur grilles collodionnées. Ces coupes sont d'abord oxydées par immersion dans l'eau oxygénée à 10% pendant 20 mn. Puis après rinçage elles sont soumises à l'action des solutions protéasiques (pronase à 0,5% dans l'eau, pH 7,4; pepsine 0,5% dans HCl 0,1N) pendant un temps variable (de 15 mn à 1 heure) à la température de 37°. Un contrastage des coupes à l'acétate d'uranyle et citrate de plomb est nécessaire pour obtenir des clichés satisfaisants. Les Fig. a et b illustrent le résultat après action de la pepsine pendant 30 minutes. La plupart des cristaux sont digérés et apparaissent comme des quadrilatères clairs dans la préparation (Cd). Sous l'énergie du faisceau d'électrons leurs angles s'arrondissent rapidement. Pour une raison inexpliquée on constate que les cristaux ne disparaissent pas des cellules nécrotiques (Cn).

(J.P. Gourret, *Colloque International sur les Mycoplasmes. Bordeaux. 11-17 sept. 1974*, p. 215-222)



INCORPORATION DE THYMIDINE TRITIÉE
par les mycoplasmes du phloème de la giroflée

Pour obtenir le résultat ci-contre des inflorescences virescentes et phyllodiées de giroflée (*Cheiranthus (Erysimum) allionii* Hort. var. jaune naine safran) ont été placées sur le milieu nutritif de Hoagland dilué au 1/2 et contenant 25 μ Ci par ml de thymidine tritiée (activité spécifique 27 Ci/mM). Les plants en expérimentation ont été placés dans une enceinte ventilée à température constante de 20°C, avec un éclairage de 4 000 lux environ. Des fragments de pédoncules floraux ont été prélevés sur chaque plant à des temps d'incubation de 24 et de 48 heures.

Les pièces ont été fixées par le glutaraldéhyde à 2,5% dans le tampon cacodylate 0,1M à pH 7,2, postfixées par le tétroxyde d'osmium à 2% dans le même tampon, puis incluses dans le mélange épon-araldite. Les coupes ultrafines ont été traitées selon la technique décrite par Larra et Droz (1970). Nous avons utilisé l'émulsion Ilford L4; la révélation a été faite par le Microdol X (Kodak) après deux mois d'exposition.

La répartition des grains d'argent au-dessus des mycoplasmes, et l'absence de bruit de fond sont tels que l'on peut affirmer ici une incorporation de thymidine tritiée par ces mycoplasmes *in situ* dans le phloème de la giroflée.

(J.P. Gourret, D. Thomas, P.L. Maillet, *Can. J. Microbiol.*, 20, 1617-1618, 1974)

(J.P. Gourret, *Colloque International sur les Mycoplasmes. Bordeaux. 11-17 sept. 1974*, 215-222).

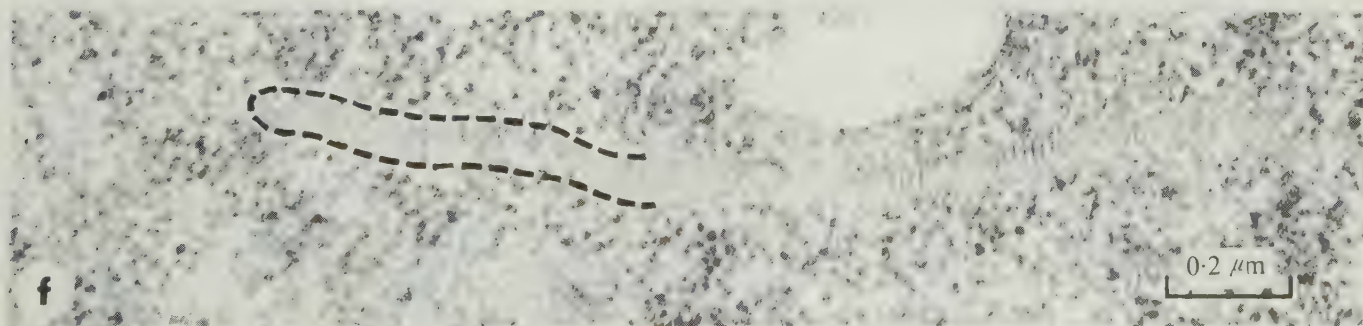
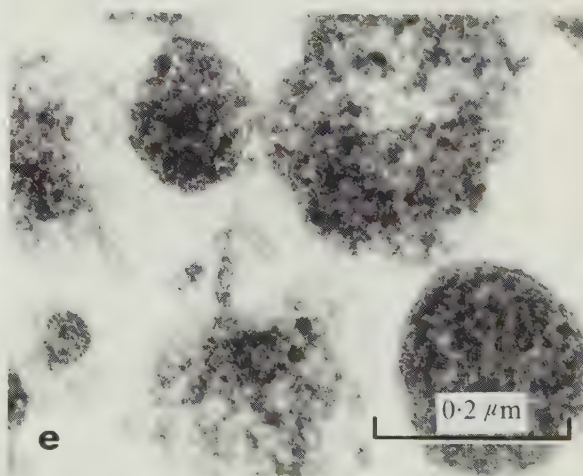
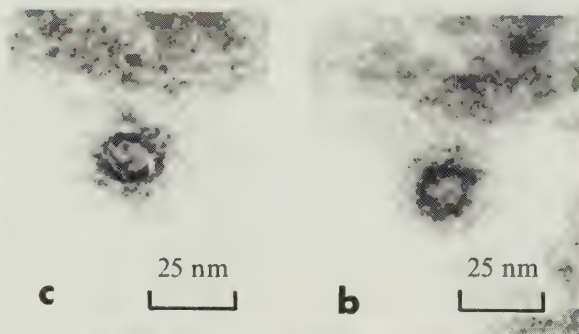
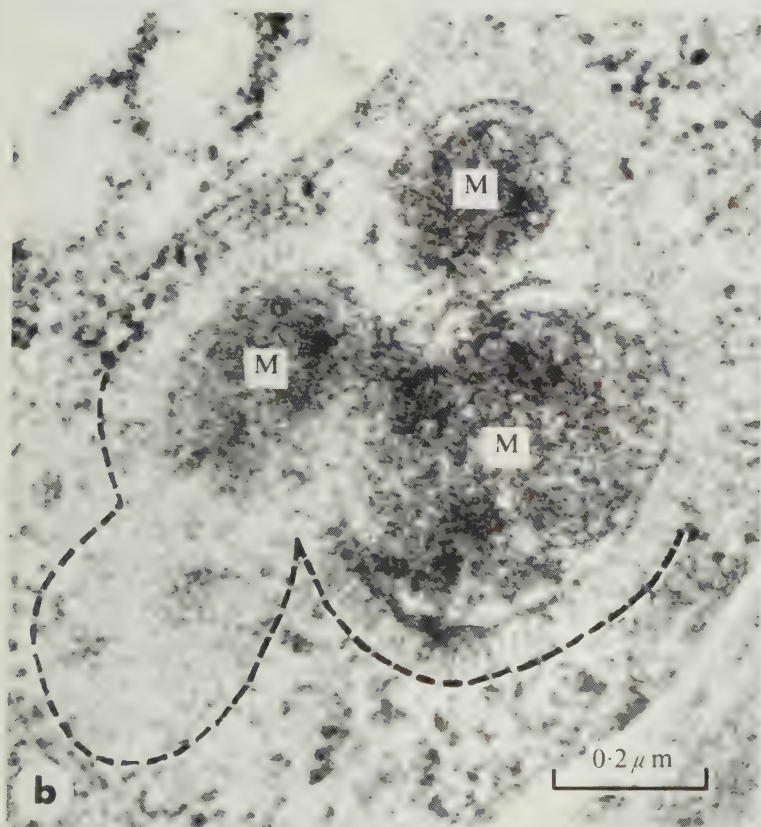
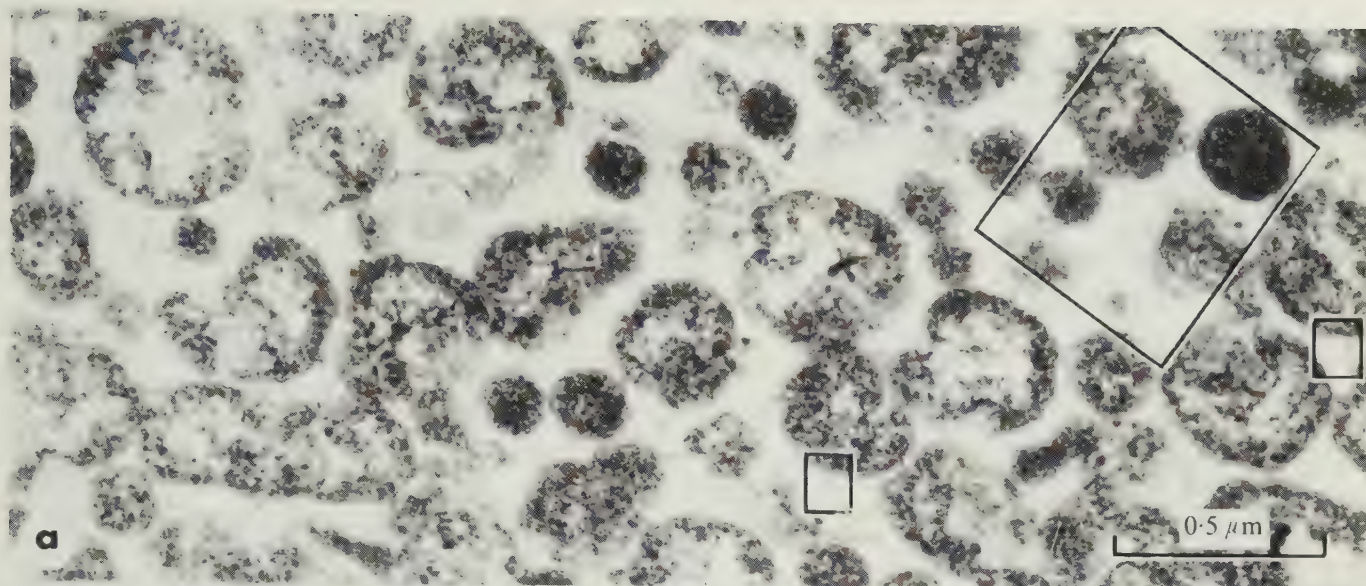


Dans le phloème d'un trèfle phyllodié.

Les figures c, d et e, représentant des agrandissements de la figure a, montrent que de très petites particules cylindriques arrondies à au moins une de leurs extrémités, se rencontrent parmi les mycoplasmes de la phyllodie du trèfle *in situ* dans un tube criblé du phloème d'un nodule.

Dans les cellules de parenchyme phloémien associées aux tubes criblés infectés, les particules peuvent se disposer en rosette autour des mycoplasmes sénescents (M) dont le contenu apparaît granuleux et dense aux électrons (Fig. b). Dans ces mêmes cellules les particules peuvent former des couches en s'agrégeant latéralement les unes contre les autres (Fig. f).

(J.P. Gourret, P.L. Maillet, J. Gouranton. *J. gen. Microbiol.*, 74,241-249, 1973)



La photographie ci-contre a été réalisée à partir d'une coupe longitudinale du phloème d'un cotonnier (*Gossypium hirsutum* L.) montrant des symptômes de virescence et de phyllodie. Les mycoplasmes, dont certains présentent un étranglement très important de leurs cellules, semblent s'écouler à travers les pores du crible. Au prime abord, ce cliché semblerait illustrer l'écoulement physiologique de la sève élaborée entraînant les mycoplasmes dans son déplacement. En réalité une telle interprétation serait vraisemblablement naïve car de nombreuses données cytologiques et physiologiques amènent à se demander si, dans les conditions naturelles, il existe réellement un transport de masse le long des tubes criblés. Dans la partie qui suit, nous discuterons assez longuement ce problème (recherche d'une interprétation cytophysiologique du phloème en général).

En accord avec ces réflexions nous tirons seulement les conclusions suivantes :

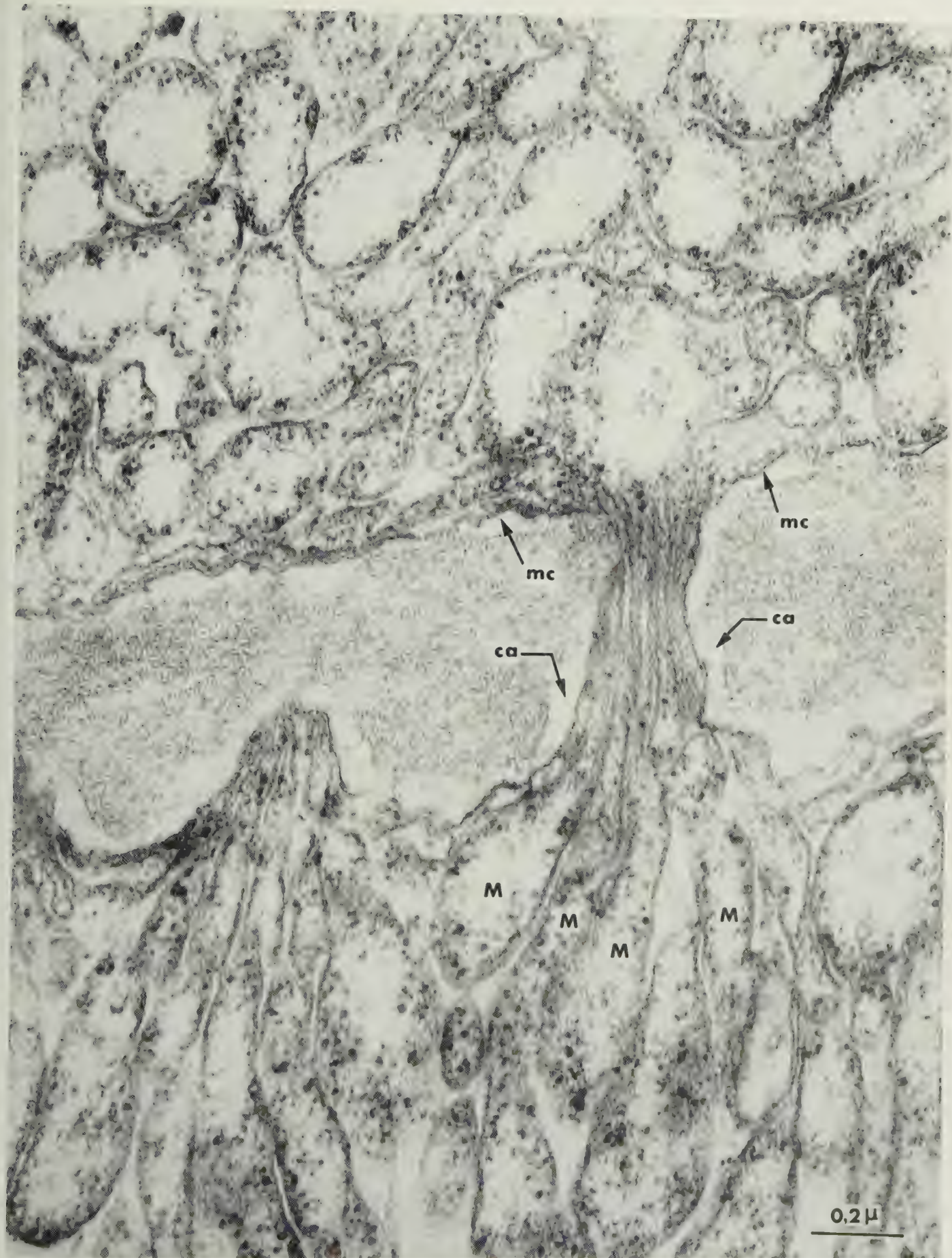
- les mycoplasmes sont particulièrement déformables puisque l'étranglement visible ici est à peine plus large que trois fois l'épaisseur de la membrane plasmique de ces mycoplasmes.

- les mycoplasmes ont pu s'engager dans les pores du crible : dans cette circonstance au moins, les pores n'étaient donc pas obstrués.

- il est impossible de dire si l'image ci-contre correspond à un mouvement propre des mycoplasmes ou à un déplacement artificiel du contenu des tubes criblés survenu lors du prélèvement du fragment de phloème étudié.

M : mycoplasme; ca : callose; mc : membrane cytoplasmique.

(J.P. Gourret, P.L. Maillet, *Cot. Fib. Trop.*, 24, 325-326, 1968).



RAPPEL de l'importance écologique des mycoplasmes de plantes.

Des mycoplasmes sont responsables de nombreuses maladies végétales dont plusieurs affectent gravement des plantes cultivées. Leur transmission naturelle se fait par des Insectes Homoptères et en particulier des cicadelles.

ULTRASTRUCTURE

Les mycoplasmes phytopathogènes -comme tous les mycoplasmes- sont des cellules procaryotes simples et déformables où le microscope électronique permet de déceler une membrane plasmique, des ribosomes en position périphérique et du DNA condensé en un nucléoïde central (coagulé par suite des processus de préparation) mais pas de paroi ni d'inclusions spéciales. En dehors des spiroplasmes qui ont parfois des filaments de structure hélicoïdale, les différentes souches responsables de ces maladies n'ont pas de caractéristiques morphologiques propres.

RAPPORTS AVEC LES CELLULES-HOTES

- Les mycoplasmes phytopathogènes sont des parasites du phloème. Ils s'observent dans la lumière des tubes criblés et dans le hyaloplasme de certaines cellules associées à ceux-ci.
- Lorsque ces mycoplasmes paraissent viables, leur taille et leur structure cellulaire sont homogènes et ils peuvent incorporer de la thymidine tritiée dans leur DNA en cours de synthèse. Dans ce cas les cellules-hôtes ont à peu près la même ultrastructure que leurs équivalents dans les plantes saines. Seule la présence occasionnelle de cristaux protéiques dans le reticulum endoplasmique et les vacuoles de certaines cellules infectées constitue à ce stade une différence significative pour le diagnostic des mycoplasmoses végétales en microscopie photonique. Par contre, des mycoplasmes sénescents de taille et de structure hétérogènes s'observent dans les tubes criblés eux-mêmes altérés (plasmolyse irréversible, nécrose et dépôts de callose). L'infection débute donc par un stade où il n'apparaît pas de lésions (parasitisme biotrophique) et elle s'achève par une sénescence concomitante du parasite et des cellules-hôtes.

AUTRES RELATIONS MISES EN EVIDENCE DANS LES PLANTES INFECTEES

- L'apparition progressive de fleurs dont les caractéristiques florales sont de plus en plus atténuées alors que leurs caractéristiques foliaires s'accroissent, constitue le symptôme le plus significatif des mycoplasmoses végétales. Cette évolution qui amène la formation d'organes tératologiques intermédiaires entre des pièces florales et des feuilles, s'accompagne d'une évolution particulière des plastides pigmentés (chloroplastes et chromoplastes), dans les cellules de ces organes.
- L'infection *in situ* de certains mycoplasmes phytopathogènes par un virus est vraisemblable.

DISCUSSION

Dans cette discussion sur les mycoplasmes phytopathogènes nous aborderons successivement les points suivants :

I - PROBLEMES DE TAXONOMIE ET DE NOMENCLATURE p. 39

1° - Recherche d'une taxonomie globale, moderne et cohérente 39

2° - Esquisse d'une taxonomie des Procaryotes 42

3° - Application aux mycoplasmes phytopathogènes 43

II - MYCOPLASMES ET PHLOEME 45

1° - Réflexions sur la physiologie du phloème. La sève élaborée coule-t-elle? 45

2° - Problèmes de localisation et de propagation des mycoplasmes dans le phloème 50

3° - Altérations du phloème infecté par des mycoplasmes 51

III - LES VIRUS DE MYCOPLASMES 52

Problème des particules d'allure virale 52

I - PROBLEMES DE TAXONOMIE ET DE NOMENCLATURE

Il y a peu de temps encore, les Mycoplasmes -comme les Bactéries- étaient souvent rangés dans le Règne Végétal. Pour essayer de faire disparaître cet archaïsme, nous avons cherché à savoir si la conception linnéenne de la systématique était la seule possible. En fait il n'en est rien. Des progrès considérables ont été réalisés dans ce domaine mais ils sont souvent méconnus ou inappliqués. Dans cette optique, l'article de Whittaker (1969) nous semble particulièrement important.

1° - Recherche d'une taxonomie globale, moderne et cohérente.

- But recherché et choix d'une méthode. Les termes de nomenclature associés à une bonne taxonomie, doivent évoquer sans ambiguïté les propriétés importantes caractéristiques des taxons considérés. Pour jouer ce rôle la taxonomie doit être moderne afin d'intégrer au maximum les connaissances actuelles et elle doit être cohérente pour des raisons didactiques. Il est souhaitable qu'elle utilise le même type de critères pour l'ensemble des objets à classer.

Dans la taxonomie traditionnelle, les Animaux et les Végétaux sont regroupés sur des critères morpho-anatomiques. C'est ainsi que l'on distingue par exemple les Chordés, les Gymnospermes ou les Annélides. Les critères morpho-anatomiques peuvent être précisés jusqu'au niveau cellulaire voire même infra-cellulaire (exemple : les Dinoflagellés caractérisés par leur dinocaryon, Grassé, Traité de Zoologie, 1952). Lorsqu'il s'agit de classer des microorganismes il est évident que la microscopie électronique se révèle une technique essentielle pour les systématiciens.

Le succès rencontré par la classification récente des Virus (système L.H.T., initiales de Lwoff, Horne et Tournier, 1965), nous semble à cet égard significatif, même si certains termes de la nomenclature sont généralement peu utilisés. Après avoir distingué les Virus en tant que groupe (parasites acellulaires du génome) et après une subdivision à base biochimique (virus à DNA / virus à RNA) l'essentiel du système L.H.T. repose sur les caractéristiques morpho-anatomiques des virions. Les classifications concurrentes comme celle de Gibbs (Gibbs et coll., 1966, 1969), n'ont que peu de succès en raison de l'ésotérisme des cryptogrammes utilisés.

Historique bref. - Depuis Linné la conception classique de la taxonomie distinguait traditionnellement deux règnes : le Règne Animal et le Règne Végétal

- Au 19ème siècle, les perfectionnements du microscope photonique et la généralisation de son usage, permirent de découvrir des êtres microscopiques "inclassables" dans l'un ou l'autre des deux règnes admis jusqu'alors. Pour résoudre ce problème, Haeckel (1866 et 1878) proposa de créer un troisième Règne qu'il appela le Règne neutre des Protistes.

- Dans la première moitié du 20ème siècle, l'accumulation des données amenèrent Chatton d'une part et Copeland d'autre part, à distinguer nettement à l'intérieur du Règne des Protistes, les Procaryotes des Eucaryotes (Chatton, 1938), les Mychota des Protoctista, (Copeland, 1947).

- En 1957 Lwoff soulignait les caractéristiques propres aux Virus et insistait sur les différences qui les séparent de tous les autres

êtres vivants, et des Bactéries en particulier.

- En 1962, Stanier et Van Niel soulignaient les caractéristiques propres aux Bactéries considérées comme cellules-types de tous les Procaryotes.

- Plus récemment, Hutchinson (1967) et Whittaker (1969) ont montré qu'il est assez difficile de trouver une distinction nette entre les Protoctista (Copeland) et d'autres Eucaryotes comme les Plantes. Ils se sont demandés s'il fallait inclure les Algues et en particulier les Chlorophycées dans ce dernier taxon regroupant les Bryophytes et les Trachéophytes. La nature des pigments des plastes et les produits que ces derniers fabriquent indiquent en effet une forte ressemblance entre Algues Vertes et Plantes terrestres.

Propositions (Fig. 1). Pour surmonter ces difficultés nous proposons ci-contre le plan d'une taxonomie générale qui intégrerait et compléterait les conceptions précédentes.

L'étude ultrastructurale de la mitose chez les Protozoaires, les Algues et les Champignons révèle -sur un échantillonnage de plus en plus représentatif puisqu'il comprend plusieurs dizaines d'espèces- une caractéristique sans doute commune à tous ces organismes : les noyaux en division y conservent intégralement ou partiellement leur enveloppe nucléaire, d'où le nom de cryptomitose qui a été utilisé par Hollande (1972) pour désigner ce phénomène. A l'inverse dans les mitoses (classiques) des Animaux et des Plantes, l'enveloppe nucléaire cesse d'être reconnaissable depuis la fin de la prophase jusqu'à la télophase. Il nous paraît logique de vouloir classer les Eucaryotes d'après la biologie de leurs noyaux puisque celui-ci constitue leur organite distinctif. D'une manière plus générale, dans cette classification, les grands groupes d'êtres vivants (Virus, Procaryotes, Eucaryotes, Protistes, Animaux, Plantes), sont essentiellement distingués d'après les caractéristiques fondamentales de leur matériel héréditaire, sans négliger pour autant d'autres caractéristiques morpho-anatomiques. Ce souci d'uniformité devrait rendre à la taxonomie une plus grande cohérence.

Nous utiliserons donc les termes ci-dessous dans le sens que leur donnent les définitions suivantes :

Virus : êtres vivants acellulaires, possédant un seul acide nucléique ADN ou ARN.

Procaryotes : êtres vivants cellulaires possédant deux types d'acides nucléiques (ADN et ARN) mais pas de noyau vrai, c'est à dire que leur matériel génétique n'est pas séparé des ribosomes par une membrane.

Eucaryotes : êtres vivants cellulaires possédant de vrais noyaux dont l'enveloppe membranaire sépare de manière permanente ou temporaire, le matériel héréditaire du cytoplasme contenant les ribosomes.

Protistes : Eucaryotes caractérisés par leur cryptomitose.

Protozoaires : Protistes dépourvus de plastes et de paroi glucidique.

Champignons : Protistes dépourvus de plastes mais possédant une paroi cellulaire glucidique.

Algues : Protistes possédant un ou plusieurs plastes dans leurs cellules.

Animaux : Eucaryotes dont les noyaux se divisent par mitose classique, avec des centrioles.

Plantes : Eucaryotes dont les noyaux se divisent par mitose classique, sans centrioles. Leurs cellules contiennent des plastes et sont limitées par une paroi cellulosique.

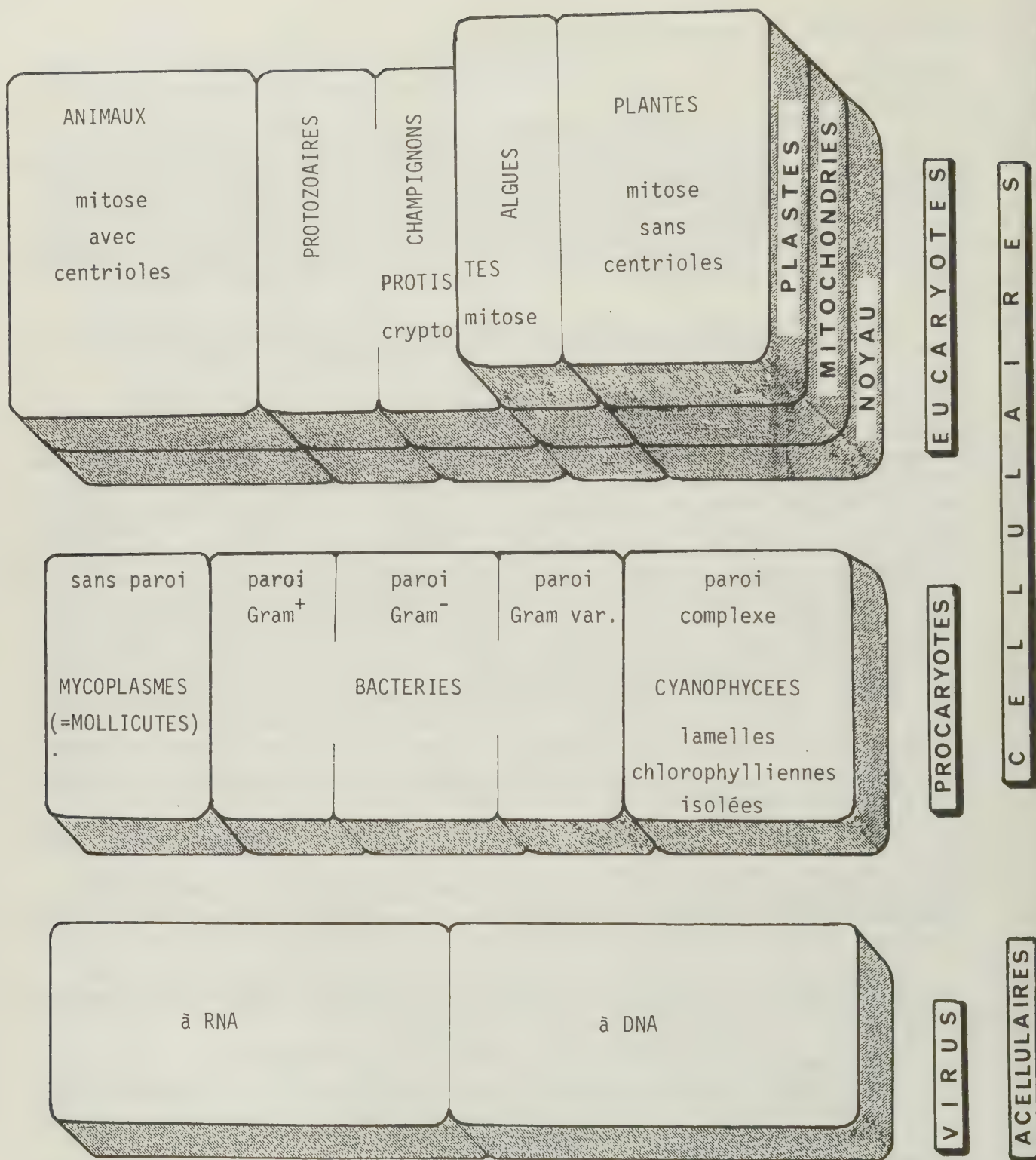


Fig. 1 - Plan d'une taxonomie générale.

Remarques sur la taxonomie proposée.

Il ressort des définitions précédentes que les Cyanophycées n'y sont pas considérées comme étant des Algues, de même que ces Cyanophycées et les Algues n'y sont pas considérées comme étant des Plantes. Aussi, étant conscients que ces acceptions ne sont pas celles utilisées par tous les biologistes et en particulier beaucoup de botanistes, nous emploierons, pour éviter les ambiguïtés des expressions redondantes telles que Plantes (terrestres), Plantes (Cormophytes) ou Plantes (Archégoniates). Ces trois expressions sont équivalentes et correspondent à ce que le langage commun désigne sous le nom de "plantes".

Précisons encore que les définitions ci-dessus ne résolvent pas le problème que posent certaines Algues qui peuvent perdre leurs plastes comme c'est le cas des Euglènes par exemple. Entre Protozoaires, Champignons et Algues, les distinctions sont loin d'être parfaites et il est certainement judicieux de considérer les Protistes comme une vaste série de phylums distincts (attitude défendue par Grassé, 1952).

2° - Esquisse d'une taxonomie des Procaryotes.

L'absence actuelle d'une classification cohérente des Procaryotes tient au fait que les bactériologistes hésitent à choisir entre des critères biochimiques ou physiologiques et des critères morphologiques (Stanier et coll., 1966, p. 332).

En tenant compte des considérations développées plus haut -à savoir que les classifications qui ont réussi sont à base de morpho-anatomie- on peut souhaiter par souci d'uniformité, que la classification des Procaryotes se fasse aussi sur des bases morpho-anatomiques. Le microscope électronique qui est un moyen essentiel d'investigation cytologique deviendrait alors un outil pour la détermination systématique. Il est évident que pour faire accepter un tel choix, il est nécessaire de reconnaître les limites de cette technique. Au niveau des espèces, des genres et peut-être même des familles, ce sont surtout les critères biochimiques, physiologiques ou immunologiques qui ont une valeur taxonomique. Seule la classification des groupes d'ordre supérieur relèverait de la cytologie ultrastructurale. Remarquons qu'une classification fondée sur des critères morpho-anatomiques n'empêcherait pas l'existence, par ailleurs, d'une classification fondée sur les caractères écologiques et physiologiques. C'est parce que la plupart des bactériologistes refusent de dissocier ces deux types de critères que "le but scientifique ultime de la classification biologique ne peut être atteint dans le cas des bactéries" (Stanier et coll., 1966).

Nous ne partageons pas tout à fait le pessimisme de ces auteurs. Il nous paraît possible, par cytologie ultrastructurale, de distinguer les grands groupes de Procaryotes d'après la structure de leur "enveloppe" cellulaire (membrane plasmique + paroi quand elle existe). Tous ceux qui ont observé des bactéries au microscope électronique savent qu'il est facile de distinguer une bactérie gram-positive d'une bactérie gram-négative au simple examen de sa paroi. Or les bactériologistes admettent que cette distinction est fondamentale pour la systématique bactérienne. Ainsi, Sénéz note : "il existe un ensemble de corrélations remarquables entre la réaction de Gram et d'autres caractères, d'ordre morphologique et biochimique". Il poursuit : "Comme le souligne Stanier, cet ensemble de faits suggère que la réaction de Gram exprime des relations évolu-

tives d'importance majeure". En effet, Stanier et coll. (1966) écrivent : "La valeur évidente de la réaction de Gram en tant qu'indice d'une parenté interne parmi les Eubactéries suggère qu'elle doit correspondre à une différence chimique fondamentale entre les cellules Gram+ et Gram-".

L'absence de cohérence dans la classification des Bactéries est surtout apparente pour les Eubactériales. Ce groupe hétéroclite contient en effet des bactéries sphériques ou en bâtonnets, des bactéries mobiles ou immobiles, des bactéries gram-positives ou gram-négatives et des bactéries sporulées ou non sporulées. Ce groupe devrait être démembré et les familles qu'il contient re-situées dans des taxons plus homogènes. Dans cet ordre d'idées Stanier et coll. (1966), proposent deux tableaux regroupant d'une part les Eubactéries unicellulaires gram-positives et d'autre part les Eubactéries unicellulaires gram-négatives (à l'exclusion des formes photosynthétiques). (p 335 et 336).

Il semble que la hiérarchie des critères à utiliser pour établir une taxonomie cohérente des Procaryotes pourrait être la suivante : 1°) absence ou présence d'une paroi; 2°) paroi toujours gram-positif/paroi toujours gram-négative/paroi gram-variable; 3°) forme de la cellule donnée par la paroi (lorsqu'elle existe).

En accord avec ces critères de classification on peut proposer les définitions suivantes :

Mycoplasmes (ou Mollicutes) : Procaryotes ne possédant jamais de paroi.

Cyanophycées : Procaryotes à paroi complexe, possédant un système de lamelles chlorophylliennes isolées.

Bactéries : Procaryotes à paroi, ne possédant pas un système de lamelles chlorophylliennes isolées.

3° - Application aux mycoplasmes phytopathogènes.

a - 1ère question : la microscopie électronique permet-elle d'appeler Mycoplasmes (ou Mollicutes) les microorganismes découverts dans le phloème des plantes atteintes de jaunisses

Cette question serait inutile s'il n'existait des articles récents discutant avec une certaine âpreté de ce problème (Maramorosch, 1974; Bové, 1975).

De plus la littérature sur les Mycoplasmes contient souvent des expressions comme P.P.L.O. "pleuropneumonia-like organism" ou plus récemment M.L.O. pour "mollicute-like organism" et "mycoplasma-like organism".

Il est vrai que la Sous-Commission pour la Taxonomie des Mycoplasmatales a édicté en 1972 des règles très strictes pour la dénomination de nouvelles espèces de Mycoplasmes. Mais ceci n'est pas notre problème puisqu'au niveau considéré il ne s'agit pas de distinguer des espèces mais de désigner simplement —tout en conservant une rigueur scientifique— des cellules procaryotes sans paroi. A notre avis la microscopie électronique, utilisée correctement, permet de distinguer de telles cellules d'autres cellules procaryotes ou organites cellulaires avec lesquels on pourrait les confondre. Enumérons ces principales sources d'erreur :

- Confusion avec des organismes du type P.L.T. (psittacose, lymphogranulome, trachome) :

Les auteurs japonais qui sont à l'origine de la découverte princeps

sur les Mycoplasmes de plantes et nous-mêmes avons hésité. Si la résolution des clichés n'est pas suffisante, à cause de coupes trop épaisses, et si la population de Mycoplasmes est en phase de sénescence, c'est à dire qu'elle est très hétérogène, il est parfois difficile de dire s'il y a ou non une paroi d'autant que l'hétérogénéité simule alors la fin du cycle des P.L.T. Il faut signaler, qu'à l'époque où ce problème a été discuté, le cycle des P.L.T. n'était pas totalement éclairci au niveau ultrastructural. Des travaux comme ceux de Lepinay et coll. (1970), ont fait progresser le problème. Ajoutons que dans le cas d'une bonne fixation, la microscopie électronique permet de distinguer nettement une population de Mycoplasmes d'une population de bactéries à paroi gram-négative même si ces bactéries ont la même taille et à peu près la même forme que les Mycoplasmes (Maillet 1970).

- Confusion avec des bactéries filamenteuses à paroi gram-négative :

Pendant un temps l'agent de la virescence du Citrus (Citrus greening) a été considéré comme un mycoplasme limité par une membrane exceptionnellement épaisse de 200 Å. (Laflèche et Bové, 1970). Une étude comparative permet d'éclaircir ce type de problème (Moll et Martin, 1974). On sait maintenant qu'il existe, en effet, des bactéries gram-négatives parasites du phloème (Giannotti et coll. 1970b ; Saglio et coll., 1971; Giannotti et coll., 1974; Windsor et Black, 1972, 1973; Hirumi et coll. 1974).

- Confusion possible avec des formes L :

L'analogie des formes L et des Mycoplasmes a été beaucoup discutée. Cette controverse semble achevée depuis que l'on a découvert des différences biochimiques entre ces deux matériels biologiques (pourcentage de G + C, quantité de DNA dans le génome). Mais, même au point de vue ultrastructural il nous semble qu'on ne peut confondre une population de Mycoplasmes en phase exponentielle de croissance avec une population de bactéries L. Ces dernières en effet sont toujours hétérogènes (Hatten et coll., 1969; Anderson 1969) alors que les Mycoplasmes à cette phase ont une grande homogénéité de structure.

- Confusion avec des gouttelettes de cytoplasme de cellules végétales ou des pseudopodes de cellules animales.

Il existe des travaux où cette confusion a été commise. Le meilleur critère pour dire que l'on a affaire à une cellule mycoplasmique est la présence d'une coagulation centrale correspondant au DNA. Celle-ci ne s'observe pas dans des gouttelettes cytoplasmiques (résultant d'une mauvaise fixation) ni dans les pseudopodes de cellules animales en culture.

- Confusion avec des vésicules golgiennes de cellules végétales:

Les polysaccharides de ces vésicules se coagulent au centre comme le fait le DNA des Mycoplasmes, aussi c'est l'absence de ribosomes qui sert ici de critère distinctif.

- Confusion avec des vacuoles en formation dans les cellules végétales en début de différenciation (voir par exemple Pl. 63, fig. b) :

La grande taille de certains de ces éléments (1 à 4 µ), leur position dans la plante et le fait qu'ils contiennent souvent un profil membranaire, permettent de dire qu'il ne s'agit pas de Mycoplasmes.

Les agents responsables des maladies considérées dans cette étude sont des organismes vivants puisqu'ils peuvent être multipliés dans des Plantes ou des Insectes qui leur servent d'hôtes. A l'examen en microscopie électronique, ces microorganismes se montrent constitués de cellules procaryotes, très pléomorphes, ne révélant jamais de paroi. En tenant compte des considérations données plus haut nous sommes fondés à dire qu'il s'agit bien de Mycoplasmes. En 1968, nous

Nom français et intérêt agronomique	Nom latin et famille	Nom de la maladie et	Auteurs qui ont observé en microscopie électronique les mycoplasmes parasites du phloème
CEREALES			
riz	<i>Oriza sativa</i> (Graminées)	rice yellow dwarf	Shikata et coll., 1968
maïs	<i>Zea mays</i> (Graminées)	padi jantan corn stunt "	Singh et coll., 1970 Maramorosch et coll., 1968 Granados et coll., 1968
LEGUMES			
tomate	<i>Solanum lycopersicum</i> (Solanacées)	stolbur	Maillet et coll., 1968
	"	"	Giannotti et coll., 1968
	"	"	Martelli et coll., 1969
	"	"	Borges et David-Ferreira, 1968
'pomme de terre	<i>Solanum tuberosum</i> (Solanacées)	mal azul witches'broom	Doi et coll., 1967
	"	"	Harrison et Roberts, 1969
oignon	<i>Allium cepa</i> (Liliacées)	jaunisse	Cousin et coll., 1971
FRUITS			
fraisier	<i>Fragaria</i> sp. (Rosacées)	pétales verts	Cousin et coll., 1970
poonnier	<i>Malus sylvestris</i> (Rosacées)	prolifération	Giannotti et coll., 1968
poirier	<i>Pirus</i> sp. (Rosacées)	pear decline	Hibino et Schneider, 1970
pêcher	<i>Prunus</i> sp. (Rosacées)	western X-disease	Nasu et coll., 1970
oranger	<i>Citrus sinensis</i> (Rutacées)	stubborn	Laflèche et Bové, 1970
SUCRE			
canne à sucre	<i>Saccharum officinarum</i> (Graminées)	white leaf "	Lin et Lee, 1968 Shikata et coll., 1968
VIN			
vigne	<i>Vitis vinifera</i> (Vitacées)	flavescente dorée	Giannotti et coll., 1969
HUILE DE TABLE ALIMENTATION DU BETAIL			
arachide	<i>Anachis hypogea</i> (Papilionacées)	balai de sorcière "	Triharso, 1973 Triharso et Gourret, 1975

FLIEURS			
aster	<i>Callistephus chinensis</i> (Composées)	jaunisse	Doi et coll., 1967
giroflée	" <i>Cheiranthus (Erysimum)</i> <i>allionii</i> (Crucifères)	" virescence-phyllodie	Shikata, 1969 Le Normand et Gourret, 1969
lavandin	<i>Lavandula hybrida</i> (Labiées)	"	Gourret, 1970.
hortensia	<i>Hydrangea macrophylla</i> (Saxifragacées)	dépérissement jaune virescence	Cousin et coll., 1971 Muller, 1971
PLANTE ORNEMENTALE			
cactus	<i>Opuntia tuna</i> (Cactacées)	witches' broom considéré comme une espèce ornementale	Lesemann et Casper, 1970
ALIMENTATION DU BÉTAIL			
trèfle	<i>Trifolium repens</i> (Papilionacées)	phyllodie	Maillet et coll., 1968
luzerne	" " (Papilionacées)	" "	Giannotti et coll., 1968 Sinha et Paliwal, 1969
féverolle	<i>Medicago sativa</i> (Papilionacées)	witches' broom	Bowyer et coll., 1969
ELEVAGE DU VER À SOIE	<i>Vicia faba</i> (Papilionacées)	virescence	Cousin et coll., 1969
mûrier	<i>Morus</i> sp. (Moracées)	rabougrissement	Doi et coll., 1967
ALCALOÏDES			
pervenche	<i>Vinca rosea</i> (Apocynacées)	virescence-pétales verts "	Maillet et coll., 1968 Ploaie, 1968
COTON			
cotonnier	<i>Gossypium hirsutum</i> (Malvacées)	virescence-phyllodie	Gourret et Maillet, 1969
BOIS	"	"	Cousin et coll., 1969
santal	<i>Santalum album</i> (Santalacées)	spike disease	Hull et coll., 1969

Tabl. 1 - Liste de plantes malades, d'intérêt agronomique, où la microscopie électronique a permis de détecter des mycoplasmes parasites du phloème. Cette liste ne cherche pas à être exhaustive mais à montrer la diversité au point de vue agronomique et botanique des plantes qui peuvent être atteintes.

avons donné comme titre à un article : "Observation de mycoplasmes dans des plantes malades". En 1975, nous pensons que l'expression de Mycoplasmes phytopathogènes est justifiée quand la reconnaissance de Mycoplasmes en microscopie électronique coïncide avec une symptomatologie, une histopathologie et une épidémiologie du type "jaunisse" de l'aster.

b - 2ème question : La microscopie électronique permet-elle de classer éventuellement les Mycoplasmes phytopathogènes? La réponse est clairement non, exception faite des Spiroplasmes qui peuvent être rattachés au genre *Spiroplasma*. A quels genres raccordera-t-on les autres Mycoplasmes de plantes? A des genres existants comme *Acholeplasma* ou *Mycoplasma* ou bien à des genres nouveaux qu'il faudrait créer? Pour beaucoup de souches isolées à partir de plantes puis cultivées *in vitro*, des données biochimiques et immunologiques suggèrent que celles-ci pourraient être rattachées au genre *Acholeplasma* (Giannotti, 1974; Wroblewski, 1974). On sait qu'*Acholeplasma laidlawii* ne doit plus être considéré comme saprophyte mais essentiellement parasite du tractus génital des Bovidés (Razin, communication orale au Colloque sur les Mycoplasmes, Bordeaux, 1974). Cette espèce pourrait aussi renfermer des souches phytopathogènes. Mais étant donné la difficulté qu'il y a à satisfaire au postulat de Koch dans le cas des Mycoplasmes de plantes non spiralés, en raison de l'absence de critères morphologiques spécifiques, il est difficile d'en proposer une classification taxonomique.

Au point de vue ultrastructural nous n'avons noté aucune différence significative dans l'échantillon que nous avons étudié. Les clichés publiés par d'autres auteurs ne l'indiquent pas non plus (voir le tableau 1, qui donne une liste brève de ces travaux). Giannotti et coll. (1969) avaient pensé que les filaments cylindriques, accompagnant fréquemment les mycoplasmes du stolbur SM, pouvaient être caractéristiques de cette souche. Il semble plutôt qu'il s'agisse de particules virales en cours de formation à partir de ces mycoplasmes. En dehors de la morphologie spiralée déjà signalée, la seule différenciation structurale des Mycoplasmes est le mucron (en anglais "bleb") de certains mycoplasmes parasitant les voies respiratoires de l'homme et des volailles. Ce mucron, qui a été observé chez *Mycoplasma gallisepticum*, *M. pneumoniae* et *M. pulmonis*, pourrait jouer un rôle dans la locomotion chez ces espèces en leur permettant de s'accrocher momentanément au support (Bredt, 1968 et 1974).

La banalité ultrastructurale des mycoplasmes cache néanmoins une grande diversité de structure au niveau moléculaire. Là où la microscopie électronique ne révélait qu'une membrane unitaire sous la forme banale de deux traits noirs séparés par un espace clair, la biochimie et l'immunologie décèlent un ensemble extrêmement complexe de macromolécules protéiques, lipidiques et glycoprotéiques qui font de ce matériel un modèle extrêmement intéressant pour l'étude des biomembranes (Wroblewski, 1974; Razin et Ne'eman, 1974; Johanson, 1974; Smith et coll., 1974).

II - MYCOPLASMES ET PHLOÈME

1°- Réflexions sur la physiologie du phloème. La sève élaborée coule-t-elle?

Il peut paraître incongru de poser cette question, tant ces mots semblent faits pour aller ensemble. La sève coule... Quoi de plus naturel! Pourtant il y a trop de données contradictoires pour que l'on ne mette pas en doute la théorie de l'écoulement en masse (mass-flow theory). Voici par exemple le pédoncule fructifère d'une tomate entrain de mûrir : le saccharose

monte mais l'auxine (AIA exogène) descend dans le même faisceau (Bonnemain, 1970, 1972). Ce problème de la bidirectionnalité a encore été signalé par d'autres auteurs (Palmquist 1938; Chen, 1951; Eschrich, 1967; Trip et Gorham, 1968; Ho et Peel, 1969). Il y a aussi l'existence de vitesses différentes pour des substances différentes cheminant dans un même faisceau (Bukovac et Wittwer, 1957; Biddulph, 1959; Penot, 1972) ou bien encore le changement de sens du transport dans un faisceau donné lorsque l'organe irrigué voit son rôle physiologique modifié au cours de son développement. Ainsi le pétiole fournit du saccharose à une jeune feuille mais plus tard il évacue le saccharose de cette feuille adulte devenue exportatrice (Canny, 1973, p. 62).

La plupart de ces résultats physiologiques ont été obtenus grâce à l'utilisation de traceurs radioactifs. Incontestablement cette technique, qui a l'avantage de ne pas altérer la plante en expérience, n'a pas fourni que des résultats discordants. Elle a même fait progresser remarquablement la physiologie du phloème.

On pouvait s'attendre à ce que la microscopie électronique, autre technique moderne, permette de découvrir la structure correspondant à la fonction de translocation. En fait il n'en a rien été comme le notent Weatherley et Johnson (1968) ou Esau (1971). La microscopie électronique a ses propres limites, à savoir d'une part l'impossibilité de visualiser des entités plus petites que les complexes macromoléculaires, d'autre part l'obligation de fixer c'est-à-dire de tuer expérimentalement le matériel que l'on veut étudier. Certes plusieurs points sont unanimement admis : la nature du tissu où se fait la translocation, à savoir le phloème dans son ensemble, le rôle des tubes criblés dont la structure tubulaire est évidente, l'existence de pores, la dissolution des constituants figurés du protoplasme des tubes, la persistance d'un plasmalemme "vivant" et la continuité de ce plasmalemme avec celui des cellules associées aux tubes criblés par l'intermédiaire des plasmodesmes, l'abondance des mitochondries dans ces cellules associées et leur richesse en ribosomes. Malheureusement pour la théorie de l'écoulement en masse, la microscopie électronique a aussi montré que dans de nombreux cas les pores des cribles sont obstrués par de la callose ou des éléments protéiques fibreux.

Ainsi la recherche d'une interprétation cytophysiologique conciliant la structure et le rôle du phloème bute à la fois sur des contradictions internes à chaque série de résultats (structuraux et/ou physiologiques) et sur des contradictions entre les deux techniques (microscopie et traceurs).

Devant ces difficultés il nous paraît nécessaire de critiquer l'amalgame que la théorie de l'écoulement en masse est contrainte de faire entre les éléments suivants : contenu des tubes criblés, sève élaborée, exsudation libérienne, translocation du saccharose, théorie de Münch et (sixièmement) l'expression "mass-flow" elle-même.

Pour tenter de résoudre les contradictions nous proposons trois hypothèses fondées sur des observations et partiellement testables expérimentalement.

Première hypothèse. La lumière des tubes criblés est occupée par un colloïde protéique stationnaire. Ce colloïde ne coule pas longitudinalement dans les tubes mais il est agité par un incessant mouvement brownien.

L'existence de ce colloïde pourrait expliquer pourquoi les constituants figurés des tubes criblés tels que les particules virales (virions), les mycoplasmes, les bactéries parasites et les restes de constituants cellulaires (reticulum endoplasmique, fibres protéiques, mitochondries, plastes, grains d'amidon et noyaux lorsqu'ils existent) ne peuvent venir obstruer les pores des cribles (ce qui serait inmanquablement le cas si le contenu des tubes coulait en masse dans un sens donné et constant). Les grains d'amidon en particulier seraient de redoutables bouchons pour les pores des cribles.

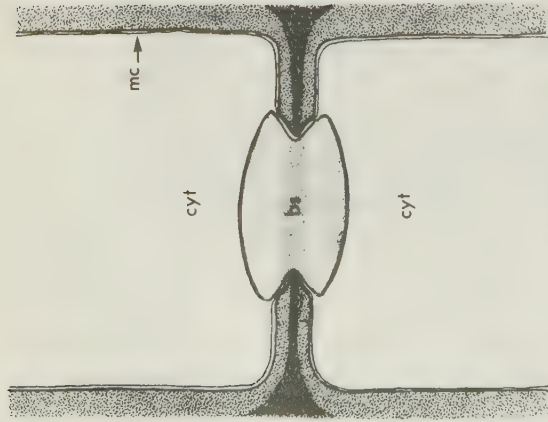
Ni la microscopie électronique, ni la microscopie photonique ne permettent de voir réellement ce colloïde, mais l'observation des tubes criblés sur du matériel vivant, met en évidence une de ses propriétés caractéristiques : le mouvement brownien. Fenson et coll. (1968), Lee et coll. (1971) ont montré par l'observation au microscope à contraste interférentiel d'un phloème isolé que les éléments figurés des tubes criblés (essentiellement des grains d'amidon) s'agitent en tous sens et oscillent par rapport à une position moyenne mais ne sont pas entraînés par un courant de masse. Ils utilisent pour cela les faisceaux conducteurs d'une Ombellifère *Heracleum mantegazzianum* ou *Heracleum sphondylium*, selon une technique mise au point par Ziegler (1958). Nous avons nous-mêmes vérifié ce mouvement brownien, chez *Heracleum sphondylium* et chez quelques autres espèces. Le phénomène paraît bien être une caractéristique générale des tubes criblés.

Un autre indice de l'existence de ce colloïde, est la gélification de l'exsudat libérien, telle qu'elle a été signalée par Kleinig et coll. (1971) ainsi que Weber et coll. (1974). Lorsqu'un faisceau conducteur est sectionné, le contenu des tubes criblés peut s'écouler pendant un temps plus ou moins long. Au contact de l'air, l'exsudat se gélifie, arrêtant ainsi l'écoulement. La gélification serait due à la présence de protéines fibreuses particulièrement abondantes dans certaines espèces. C'est ainsi que beaucoup de recherches ont porté sur *Cucurbita maxima* et *C. pepo*. Les tubes criblés du genre *Cucurbita* sont connus pour être de grande taille et posséder des cribles transversaux à pores largement ouverts (1 à 2 μ comme le signale Buvat, 1963). Cette particularité cytologique permet d'obtenir un exsudat relativement abondant. Celui-ci est très riche en protéine(s) comme le notait Cooil, dès 1941 (tableau de Canny, 1973, p 98). Dans leur important article, Weber et coll. (1974) étudient la structure et la biochimie de ces protéines contenues dans l'exsudat de *Cucurbita maxima*. Les nombreuses techniques qu'ils utilisent (caractérisation biochimique et immunologique, coloration négative et coupes fines en microscopie électronique) leur permettent de conclure tout d'abord à la diversité de ces protéines. Ils notent aussi qu'aucune d'entre elles n'a des propriétés voisines de celles de l'actine; mais par contre une analogie avec des protéines ribosomales de la plante est mise en évidence. En fin de compte, ils pensent que ces protéines-P (P pour phloème), ne jouent pas un rôle de protéines contractiles capable d'entraîner la sève élaborée dans un écoulement en masse.

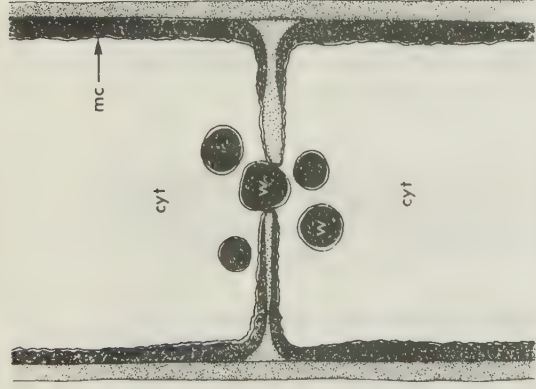
Il nous semble que les théories qui cherchent à mettre en évidence des éléments cytologiques figurés servant de pompe "mécanique" dans le système criblé afin d'étayer l'hypothèse d'un écoulement en masse, sont vouées à l'échec, qu'il s'agisse des fibres et tubules (Thaine 1962, 1969; Weatherley, 1972; Aikman et Anderson, 1971; Gilder et Cronshaw, 1973, 1974) ou encore des cribles eux-mêmes (Spanner, 1958, 1970). Ces théories sont l'objet d'une critique minutieuse de la part de Canny (1973). De plus on conviendra aisément que les modèles qui font appel aux tubules ou autres protéines fibreuses ne sont applicables que dans les cas où de tels tubules ou fibres existent. Comme ceci ne se rencontre que dans une partie des tubes criblés des plantes à phloème (Canny est mal informé en écrivant le contraire, p. 225) il est évident que ces modèles ont peu de chances de représenter un phénomène général. Une bonne théorie à nos yeux devrait être capable de rendre compte des phénomènes de translocation non seulement chez les Plantes Vasculaires qui ont des cellules tubulaires criblées hautement différenciées (et sans équivalent chez tous les Eucaryotes) mais aussi chez les Champignons et les Algues où le transport se fait dans les hyphes et dans les cellules. Dans cet ordre d'idées, les travaux de Schmitz et Srivastava (1975) sur l'Algue Brune *Alaria marginata*, montrent qu'une translocation rapide de mannitol et d'acides aminés a lieu dans un système de cellules qui ne possèdent pas de protéines-P, mais gardent au contraire de nombreuses vacuoles et un cytoplasme riche en organites dont on n'imagine pas qu'ils puissent être l'objet d'un écoulement en masse.

Deuxième hypothèse. La translocation du saccharose a les caractéristiques d'une diffusion accélérée (Mason et Maskell, 1928, Canny, 1973). Cette diffusion pourrait être due à l'agitation du colloïde des tubes criblés et facilitée par la pesanteur.

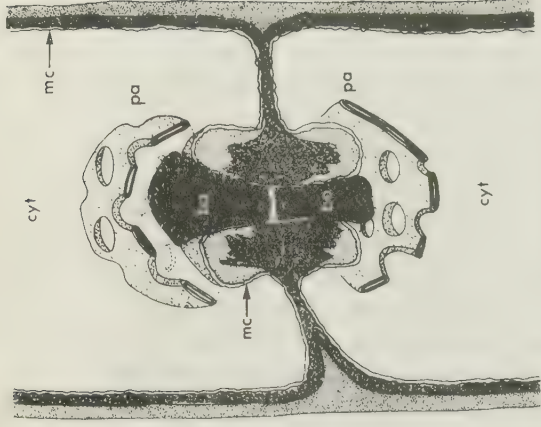
Il faut en effet noter que les feuilles productrices se trouvent haut-placées par rapport aux sites d'utilisation, tandis que les organes qui reçoivent de grandes quantités de saccharose sont des organes pendants ou souterrains (fruits approchant de la maturité, tubercules, racines, bulbes, rhizomes). On pourrait rapprocher de ceci la position relative des amyloplastés et des chloroplastes dans l'algue unicellulaire *Acetabularia*. Le stockage de l'amidon semble s'y faire dans les parties basses de la cellule. (Boloukhère, 1972). Cette disposition est d'ailleurs globalement valable dans toutes les plantes. On peut donc penser que l'agitation brownienne du colloïde des tubes criblés (sa fluidité serait équivalente à celle de l'éther à 60° C, d'après les calculs de Lee et coll., 1971) facilite le déplacement vers le bas des solutions concentrées de saccharose. Quant aux déplacements vers le haut ils pourraient s'expliquer par l'établissement d'un équilibre isostatique local dans un système en U dont les deux branches communiquent. De tels déplacements vers le haut ont été clairement décrits par Bonnemain (1972).



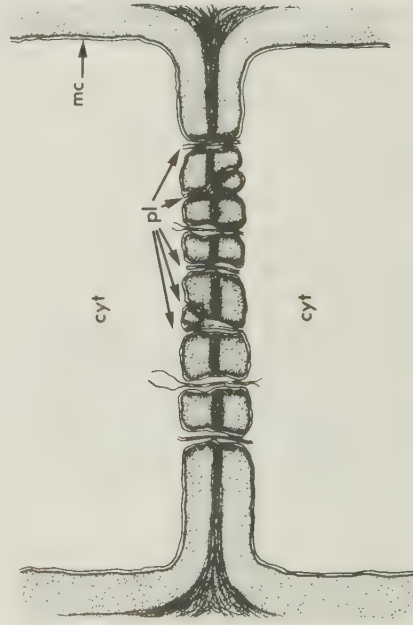
Algues et Plantes
Floridées



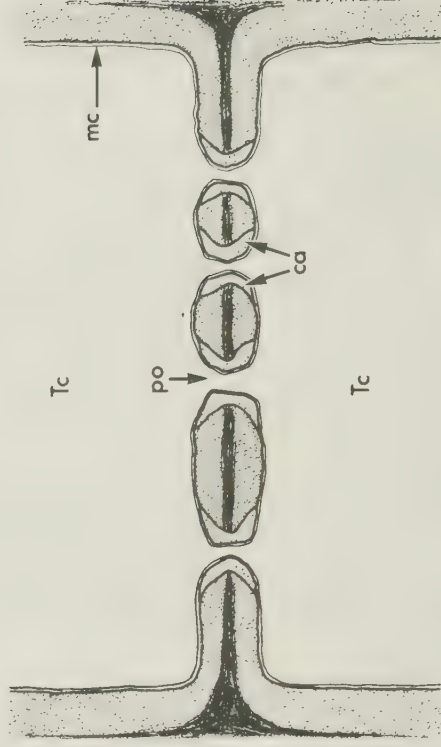
Champignons
Ascomycètes



Champignons
Basidiomycètes



Algues et Plantes
plasmodesmes



Plantes
crible du phloème

Fig. 2 - Principaux types de dispositifs assurant et contrôlant les communications intercellulaires dans les Végétaux possédant un symplasme (multicellulaire).

bo : bouchon; bs : bouchon synaptique; ca : callose; cyt : cytoplasme; mc : membrane cytoplasmique; pa : parenthésome; pl : plasmodesmes; po : pore du crible; Tc : tube criblé; W : anneau de Worthington.

Troisième hypothèse. Les grains de Woronine des Ascomycètes, les cloisons perforées à parenthésomes des Basidiomycètes, les bouchons synaptiques des Floridées, les plasmodesmes et la callose sont des dispositifs qui évitent aux Végétaux de perdre leur protoplasme ou le contenu de leurs tubes criblés lorsqu'ils sont victimes d'un traumatisme mécanique entraînant une rupture de leur plasmalemma. Le nombre des prédateurs (les animaux brouteurs) et des causes physiques (le vent, les chocs avec les animaux) pouvant provoquer ce traumatisme est suffisamment important pour que l'on admette l'existence d'un tel système défensif finalisé chez les Végétaux multicellulaires. Il est actuellement bien démontré que la translocation du saccharose ne peut se faire que dans un phloème intact non sectionné (ce qui explique la technique mise au point par Ziegler 1958 et développée par Fensom et ses collaborateurs (1968, 1970). On sait aussi que l'apparition de la callose est physiologiquement liée à un ralentissement puis un arrêt de la translocation.

En conclusion, au terme de cette analyse on voit que le problème s'est modifié. En fonction de ce que l'on entendra par sève élaborée il n'y a plus une, mais plusieurs questions. Est-ce que le saccharose et les autres produits de la photosynthèse sont évacués, grâce aux tubes criblés, depuis les organes chlorophylliens où ils se forment vers des organes de stockage ou vers des sites d'utilisation immédiate? La réponse est : assurément oui. Est-ce que le contenu des tubes criblés s'écoule en masse, *in vivo*? Très vraisemblablement non. La sève élaborée ne doit plus être considérée comme une substance unique dont on chercherait les propriétés globales d'écoulement. Il paraît beaucoup plus efficace d'adopter une attitude analytique comme celle de Canny (1973). Ajoutons qu'au point de vue cytologique des idées novatrices se font jour également dans un article récent d'Esau (1971), (atténuation de la distinction entre cellules-compagnes et cellules de parenchyme phloémien, longévité des tubes criblés pendant plusieurs dizaines d'années, coopération entre xylème et phloème en particulier grâce aux cellules de transfert, ouverture des pores de cribles, etc). La conciliation entre structure et fonction du tube criblé est peut-être proche!

2° - Problèmes de localisation et de propagation des mycoplasmes dans le phloème.

Les mycoplasmes phytopathogènes sont des parasites spécifiques du phloème. Ils se rencontrent exclusivement dans la lumière des tubes criblés et dans le hyaloplasme de certaines cellules associées à ces tubes. Cette distribution pose quelques problèmes. On peut en particulier se demander comment les cellules de parenchyme se sont contaminées. Est-ce que cette contamination provient d'un insecte-vecteur qui aurait piqué cette cellule et y aurait introduit des mycoplasmes véhiculés par sa salive, ou bien cette cellule s'est-elle contaminée par l'intermédiaire des plasmodesmes qui mettent en continuité le hyaloplasme des cellules associées et la lumière des tubes criblés comme nous l'avons signalé plus haut. Cette dernière hypothèse est de loin la plus vraisemblable pour les raisons suivantes : des mycoplasmes intracytoplasmiques s'observent régulièrement dans des cellules de phloème qui n'ont pu avoir aucun contact avec des stylets d'insecte-vecteur (mycoplasmes dans le phloème de nodules de trèfle Pl 53, fig. c, ou mycoplasmes de plante en serre, infectées par greffage).

C'est donc d'une propagation dans le symplasme qu'il s'agit. Nous pensons que cette propagation se fait progressivement par accroissement de la colonie résultant de l'inoculum initial. Cet accroissement peut être suivi grâce à l'apparition des symptômes sur les organes nouvellement contaminés et par l'observation directe des mycoplasmes dans les tubes criblés de ces mêmes organes. Maramorosch et coll. ont d'ailleurs réalisé en 1962 des expériences très démonstratives sur la translocation du "virus" (alias mycoplasme) de la jaunisse de l'aster. Ils ont montré qu'un minimum de 2 heures et généralement 6, 8 ou 24 heures étaient nécessaires pour que l'infection à mycoplasmes, partie de la feuille à la suite de la piqûre d'un insecte-vecteur, atteigne la tige de l'aster. Soit donc un minimum de 2 heures pour parcourir quelques centimètres (le pétiole et un bout de nervure). Ce chiffre est sans commune mesure avec les 100 cm/heure que l'on attribue en moyenne à la vitesse de translocation du saccharose à partir d'une feuille productrice (Canny, 1973). De cette comparaison on déduit que les mycoplasmes et le saccharose ne se déplacent certainement pas de la même façon. Ceci nous évite de faire une hypothèse sur une éventuelle mobilité des mycoplasmes, de plantes, non spiralés.

Le passage des cribles a donné lieu à beaucoup de spéculations. Plusieurs auteurs ont observé des mycoplasmes semblant s'écouler à travers les pores des cribles (Shikata, 1969; Gourret et Maillet, 1969; Giannotti et coll., 1970b; Borges et David-Ferreira, 1970; Westphal et Heitz, 1971; Leclant et coll., 1971; Worley, 1973; Jacoli, 1974). Du seul examen de ces clichés de microscopie électronique il n'est pas possible de déduire la nature du phénomène qui leur confère cette forme. Tout au plus peut-on remarquer l'étonnante plasticité des mycoplasmes et le fait qu'ils puissent s'engager dans les pores qui ne sont donc pas obstrués à l'état physiologique.

3°- Altérations du phloème

Dans un phloème sain, le plasmalemme des tubes criblés est étroitement appliqué contre la paroi de ces tubes et toutes les cellules sont turgescentes.

Dans un phloème fortement contaminé par des mycoplasmes et ce depuis longtemps, l'observation cytologique montre presque toujours des images caractéristiques. Des tubes criblés ou des cellules associées se sont nécrosés et leurs parois en s'accolant ont produit des nappes cellulosesiques souvent en forme de croissant. Ces nappes sont discernables en microscopie photonique ordinaire ou à fluorescence (Carle, 1965; Cousin, 1967; Gourret, 1970). Le nombre de cellules nécrosées est variable et dans certains cas favorables on note que cette nécrose s'accompagne d'une plasmolyse irréversible. Le plasmalemme s'est écarté de la paroi et l'espace ainsi apparu est occupé par une substance fibreuse qui est sans doute de la callose. Quand l'oblitération de ces cellules n'est pas totale on peut y distinguer des mycoplasmes qui montrent eux-mêmes des signes évidents de sénescence. (Pl. 9) : les mycoplasmes sont opaques ou très hétérogènes du point de vue densité et on observe de très nombreuses microparticules. Or ceci est une caractéristique des populations sénescents de mycoplasmes (Le Normand et coll., 1971; Maniloff, 1972).

Au contraire des cellules précédentes, les cellules de phloème qui renferment des mycoplasmes de taille et de structure homogènes ne montrent aucun signe de dégénérescence. Le plasmalemme en particulier est bien appli-

qué contre la paroi des tubes criblés. Les mycoplasmes de telles cellules peuvent incorporer de la thymidine tritiée (Pl. 13). On peut donc penser qu'ils sont viables et qu'ils se multiplient étant donné certaines images de division.

En résumé : des mycoplasmes apparemment viables, s'observent, nombreux, dans du phloème non altéré alors que le phloème dégénérescent est contaminé par des mycoplasmes sénescents. Pour expliquer ceci il faut faire appel à une règle que l'étude cytologique comparée des parasites et symbiotes intra-tissulaires (c'est à dire ecto- ou endocellulaires) a permis de mettre en évidence : contrairement à une idée préconçue il n'est pas possible de distinguer cytologiquement chez l'hôte un parasite biotrophique d'un symbiote intra-tissulaires. Ces microorganismes montrent en effet un point commun fondamental du point de vue de la biologie cellulaire. Les chercheurs qui ont travaillé sur des microorganismes pathogènes (bactéries ou champignons) ont constaté qu'au cours de la prolifération du pathogène, les cellules-hôtes ne semblent pas lésées mais au contraire possèdent un métabolisme activé. En particulier elles montrent un développement du réticulum granulaire. (Shaw et Manocha, 1965; Williams et Yukawa, 1967; Stavely et coll., 1969; Van Dyke et Hooker, 1969; Le Normand et coll., 1971). Les symbiotes "activent" également leurs cellules-hôtes pendant leur propre phase de développement. Plus tard les parasites et les symbiotes meurent (ou terminent leur cycle) en même temps que meurent leurs cellules-hôtes. Il y aurait donc activation concomitante de la protéosynthèse chez l'hôte et chez le symbiote (ou le parasite) puis arrêt total concomitant de cette protéosynthèse chez les deux partenaires. L'arrêt de la protéosynthèse amènerait la mort des cellules-hôtes faute du renouvellement des protéines. Quant au symbiote (ou parasite) il meurt également et sans doute pour cette même raison, ou bien il produit des spores résistantes métaboliquement inertes. Il est clair que ce schéma s'applique aux mycoplasmes ci-dessus. Ceux-ci n'ayant pas de spores de résistance, meurent en même temps que leurs cellules-hôtes. La dégradation progressive du système criblé accélère le dépérissement de la plante. Auparavant, tant que la plante fournit suffisamment de métabolites nécessaires à la croissance des mycoplasmes il n'y a pas d'altérations visibles du phloème. Les lésions du phloème sont des lésions de fin d'infection.

Signalons par ailleurs que Daniels et Meddins (1974) attribuent le pouvoir pathogène de *Spiroplasma citri* à la production d'une toxine. Ces travaux demandent toutefois à être confirmés avant que l'on puisse expliquer, de cette manière, les altérations du phloème et les modifications tératologiques caractéristiques des mycoplasmoses végétales. Il est en effet très peu probable que tous ces symptômes soient dus à l'action d'une substance toxique.

III - LES VIRUS DE MYCOPLASMES

Problème des particules d'allure virale.

Les particules qui ont été observées dans le voisinage de certains mycoplasmes tant chez le trèfle phyllodioté que chez des insectes-vecteurs ont la forme de courts bâtonnets cylindriques montrant en coupe transversale deux cercles concentriques inégalement denses aux électrons. Ces particules semblent constituées de deux cylindres emboîtés, arrondis à leurs extrémités

(l'une d'elle pouvant être parfois tronquée). Ces deux cylindres ont comme diamètre externe environ 16 nm et 27 nm. Leur longueur est plus difficile à déterminer étant donné l'orientation au hasard par rapport au plan de la coupe; (cette difficulté ne se rencontre pas dans le cas des observations en coloration négative sur film-support). Néanmoins on peut dire que cette longueur est comprise entre 50 nm et 90 nm pour la très grande majorité des particules (et vraisemblablement plus près de 50 que de 90 nm). Plusieurs phytopathologistes ont signalé la présence de particules analogues au voisinage de mycoplasmes infectant diverses plantes atteintes de jaunisses (Ploaie, 1971; Allen, 1972; Hirumi et Maramorosch, 1972; Giannotti et coll., 1973; De Leuw, 1974, communication personnelle). Les particules observées avec les mycoplasmes du trèfle (Ploaie, 1971; Gourret et coll., 1973) semblent être les plus courtes; celles décrites par Giannotti sont plus longues. En dépit de cette légère différence, les particules ont entre elles une très grande ressemblance. En s'accumulant elles peuvent former des agrégats paracristallins en pseudomorphoses smectiques à une couche (Gourret et coll., 1973), deux couches (Allen, 1972), plusieurs couches (Giannotti et coll., 1973). Leur position par rapport à la membrane des mycoplasmes est également caractéristique. Elles se trouvent toujours à l'extérieur et semblent bourgeonner perpendiculairement à cette membrane ou bien résultent d'un étranglement du mycoplasme. Ceci est très net dans les clichés publiés par Giannotti et coll. (1973). De plus quand ils s'observent en nombre important les mycoplasmes sont hétérogènes en taille et en densité. Par la régularité de leur taille, de leur forme et de leur structure ces particules font donc penser à des virions en général.

Par leur disposition autour des mycoplasmes ils évoquent plus précisément un bourgeonnement à partir de la membrane cytoplasmique. Ceci correspond à la morphogenèse des virus de mycoplasmes du type MVL 1, découverts par Gourlay en 1970. Les études ultérieures (Gourlay et coll., 1971; Liss et Maniloff, 1971; Maniloff et coll., 1974) ont montré que ces virus à DNA, à un brin circulaire, ne lysent pas les mycoplasmes où ils se multiplient mais sont libérés progressivement par bourgeonnement de la membrane des cellules. Notons cependant que les virus MVL 1, sont environ deux fois plus étroits que les particules d'allure virale accompagnant les mycoplasmes de plantes. De plus les virus MVL 1 ont toujours été vus de profil mais pas en coupe transversale, ce qui rend la comparaison plus difficile. Il est donc possible que les particules associées (occasionnellement) aux mycoplasmes de plantes constituent un groupe original de virus de mycoplasmes. Pour pouvoir le dire, il faudrait connaître leur composition et en particulier savoir si elles contiennent bien un acide nucléique auquel cas il y a tout lieu de penser qu'il s'agirait effectivement de virus infectant les mycoplasmes. Leur pouvoir pathogène pourrait alors être utilisé dans la lutte biologique contre les mycoplasmes de plantes comme nous l'écrivions en 1973 (Gourret et coll.). Il est cependant probable que dans les prochaines années, ces objets biologiques auront surtout un intérêt en recherche fondamentale pour éventuellement caractériser les mycoplasmes extraits de plantes.

BACTÉRIES

DES NODULES RACINAIRES

Au départ de cette étude nous savions que les racines de légumineuses portaient des nodules et que ceux-ci pouvaient fixer l'azote atmosphérique grâce à la présence d'une bactérie symbiotique appelée *Rhizobium*. A partir de cette base correcte mais combien sommaire nous avons mené parallèlement une exploration cytologique des nodules de légumineuses et la lecture des écrits scientifiques s'y rapportant. Cette investigation -autodidacte par certains côtés- n'aurait pu donner des résultats sans les multiples collaborations dont nous avons bénéficié et sans les techniques de microscopie électronique qui étaient déjà utilisées en routine dans le groupe de Biologie Cellulaire de Rennes.

Nous sommes venus à l'étude des nodules de légumineuses par la lecture de travaux de Vanderveken (1964, 1966) signalant que le "virus" (alias mycoplasme) de la phyllodie du trèfle pourrait induire la formation de nodules inefficients sur les racines des trèfles malades. Nous avons dès lors cherché à préciser l'ultrastructure de tels nodules résultant d'une interaction mycoplasme-*Rhizobium*. Ceci ne pouvait se faire sans l'étude comparative du témoin sain. Pour ce dernier nous avons obtenu des données photographiques qui ne semblaient pas avoir été publiées par d'autres auteurs à l'époque. De plus le problème de la localisation de la leghémoglobine était en suspens. A ce moment, H. Fernandez-Arias est arrivé au laboratoire en vue de mener une recherche conduisant à un doctorat de 3ème cycle. A partir des premiers éléments que nous avons rassemblés il a mené une étude monographique sur l'ultrastructure des nodules de *Trifolium repens* L. et localisé la leghémoglobine grâce à l'emploi critique de la diaminobenzidine (DAB). Les observations ainsi réalisées étaient en accord avec la théorie proposée depuis plusieurs années par Bergersen et en accord également avec une publication de G. Truchet parue vers cette époque et utilisant la même technique (Truchet, 1972).

Au cours de cette étude que nous avons menée en collaboration avec Fernandez-Arias il est également apparu que la formation des bactéroïdes de *Rhizobium trifolii* comporte l'apparition de structures jusque là non décrites (buissons de vésicules internes détectés à la diaminobenzidine, corps granuleux au niveau des plages à DNA des bactéroïdes). A partir de cette percée chez *Trifolium repens* il devenait intéressant de voir si ces éléments se retrouvaient dans les autres nodules de légumineuses. Il en est résulté les observations et les conclusions que nous relaterons plus loin.

Ce travail a été facilité par l'amicale collaboration de collègues agronomes ou botanistes qui nous ont permis d'obtenir de nombreuses légumineuses nodulées. Nous sommes en particulier redevables à M. Obaton de nous avoir fourni des nodules de légumineuses tropicales maintenues en serre à l'INRA de Dijon.

Des mises au point bibliographiques comme celle de Tardieux (1968) et des ouvrages comme celui de Boullard (1967) nous révélèrent entre temps que des nodules fixateurs d'azote d'un autre type que celui des nodules de légumineuses, existaient chez des plantes comme *Alnus*, *Hippophaë* et *Myrica* entre autres. Nous avons alors fixé des nodules appartenant à ces plantes et réalisé leur étude ultrastructurale. Leur interprétation nous a été grandement facilitée tout d'abord par la lecture d'un article de Becking et coll. (1964), puis les communications au Colloque International sur la fixation d'azote tenu à Edimbourg en septembre 1973, et enfin par la lecture de l'ouvrage de Quispel (1974) sur la biologie de la fixation de l'azote et où celui-ci expose lui-même les caractéristiques de l'endophyte des nodules des non-légumineuses.

.multiplication des Rhizobium dans le sol

.pénétration des bactéries
dans la racine

.cordons d'infection

.pénétration des bactéries
dans le cytoplasme

.polyploïdie

.mitoses

.dédifférenciation cellulaire

.formation et croissance
de la nodosité

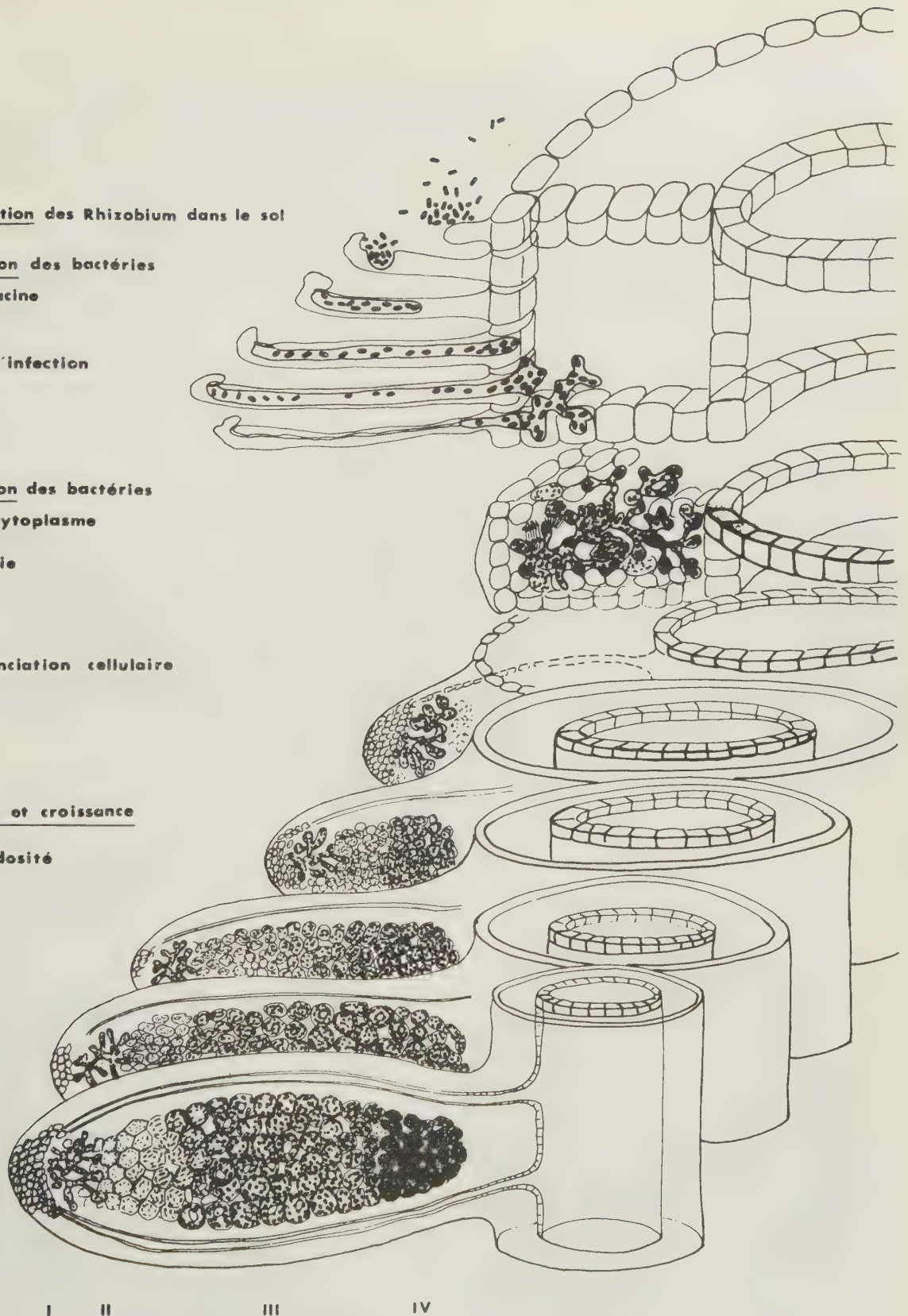
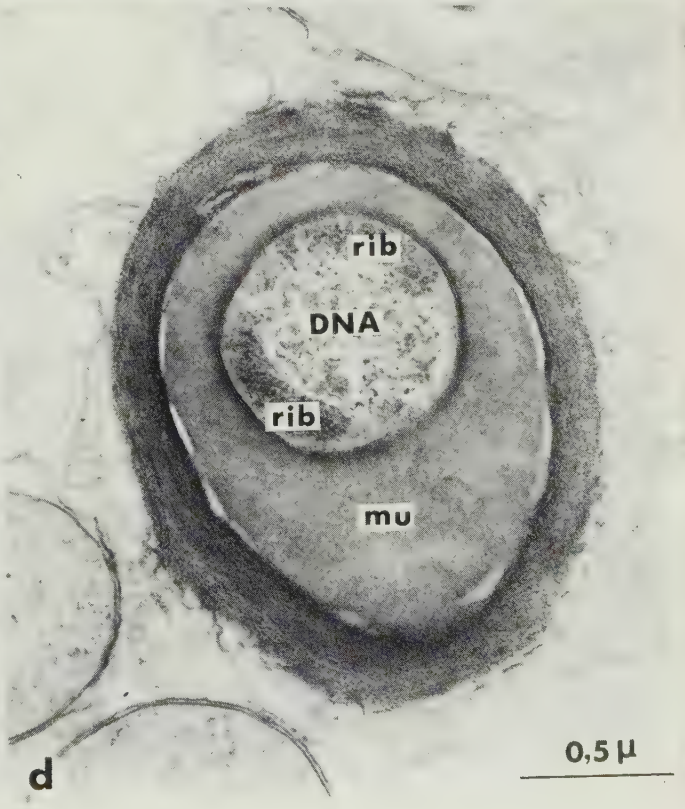
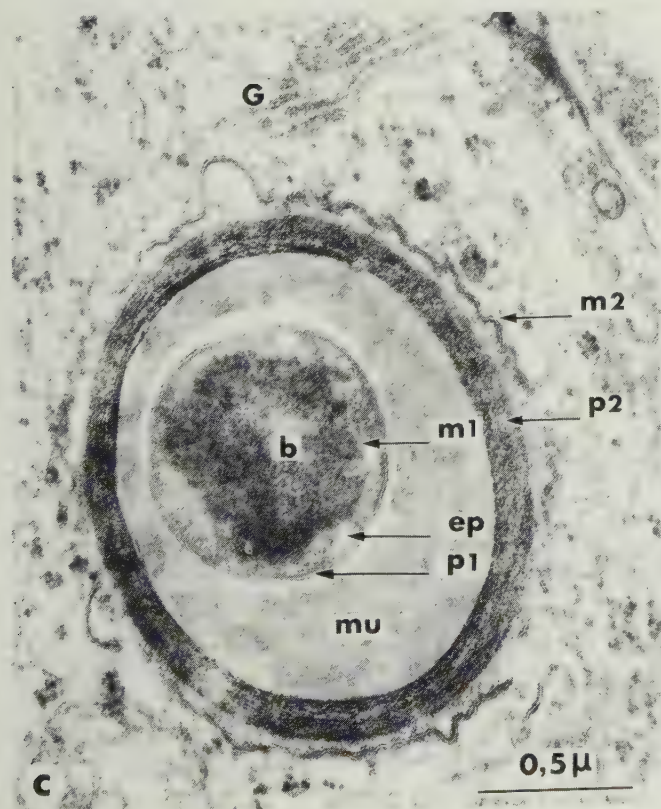
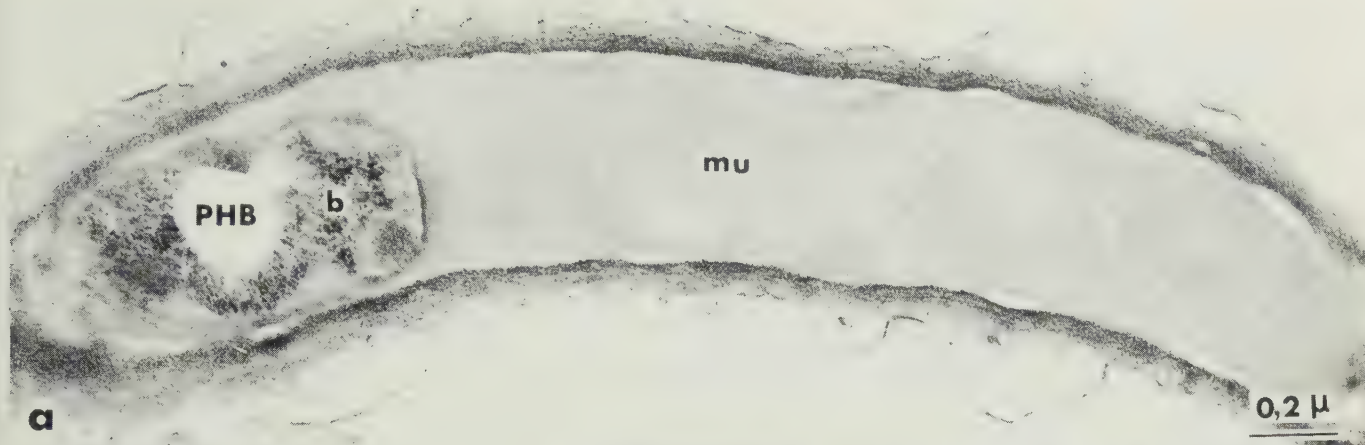


Fig. 3 - Schématisation des étapes du développement d'un nodule
de Trifolium repens L.

Rhizobium trifolii dans les cordons d'infection

Dans les sept planches qui viennent (16 à 22) nous allons raconter l'histoire de *Rhizobium trifolii* dans les nodules de *Trifolium repens* L. *Rhizobium trifolii* Dangeard vit d'abord dans des cordons d'infection comme ceux que l'on voit ici, coupés suivant différents angles (longitudinalement dans la figure a, transversalement dans les figures c et d, obliquement dans la figure b). *Rhizobium trifolii* est alors une petite bactérie à paroi gram-négative (paroi visible en c), environ deux fois plus longue que large ($0,7$ à $0,8 \mu \times 1,5 \mu$) et possédant un nucléoïde constitué de DNA condensé et coagulé (Fig. d), des ribosomes périphériques (rib), une membrane plasmique (m1), un espace périplasmique parfois dilaté (ep) (Fig. c), une paroi (p1), des gouttelettes claires correspondant à un lipide de réserve (le poly- β -hydroxybutyrate noté PHB). *Rhizobium trifolii* vit dans une substance apparaissant ici en gris et que l'on désigne sous le nom de mucilage (mu). Ce mucilage s'insinue au niveau de la lamelle moyenne quand un cordon traverse une paroi pecto-cellulosique du trèfle (Fig. b). En réalité ce mucilage est continu parce que les cordons forment un système ramifié et buissonnant qui abrite une population de *Rhizobium* tout au long de la croissance du nodule (voir fig. 4). Si *Rhizobium* semble libre de ses mouvements dans cette gelée mucilagineuse, il reste séparé du cytoplasme du trèfle par la paroi cellulosique (p2) et la membrane cytoplasmique ou plasmalemma (m2) de celui-ci. Néanmoins un grand nombre de cellules du trèfle contiennent maintenant une ramification des cordons infectieux. b : bactérie; G : dictyosome.

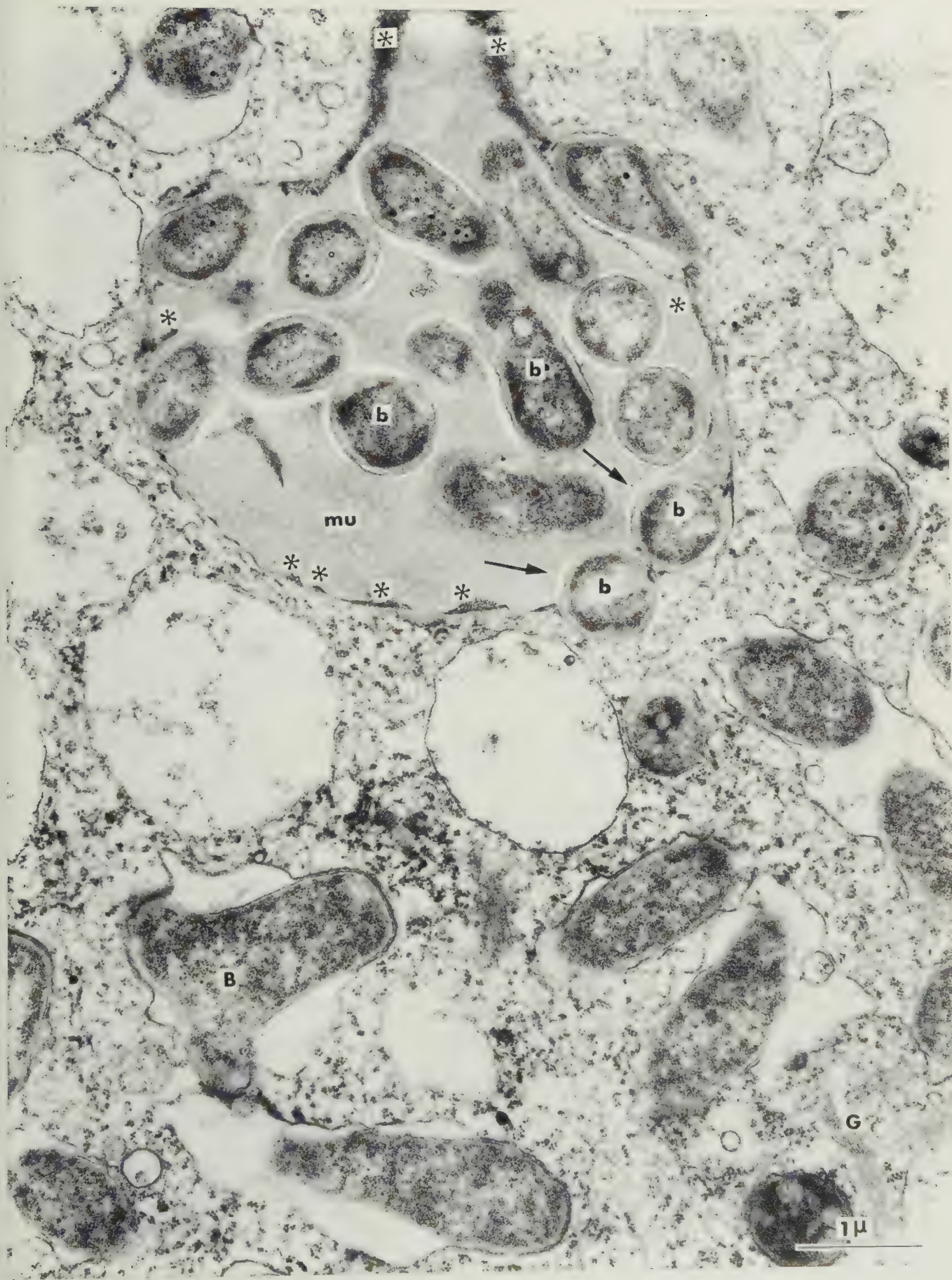
(originaux non publiés sauf Fig. d, Gourret et Fernandez-Arias, *Can. J. Microbiol.*, 20, 1169-1181, 1974).



L'entrée dans le cytoplasme du trèfle

Rhizobium trifolii a proliféré dans une boursoufflure terminale d'un cordon d'infection. La couche cellulosique a pratiquement disparu; il n'en existe plus que des lambeaux (*). Les deux bactéries qui sont indiquées chacune par une flèche sortent du cordon d'infection et s'apprêtent à entrer dans le cytoplasme du trèfle par endocytose c'est à dire en repoussant devant elles la membrane cytoplasmique de leur cellule-hôte. Cette membrane se refermera sur elle-même piégeant ainsi chaque bactérie dans une vacuole. Alors commencera pour *Rhizobium trifolii* une nouvelle étape dont les bactéries B ont déjà vécu une partie. Le cytoplasme de leur hôte semble actif et bien pourvu en organites divers : ribosomes, reticulum endoplasmique granulaire, dictyosomes (G).

(original, non publié)



Les dernières divisions de *Rhizobium trifolii*

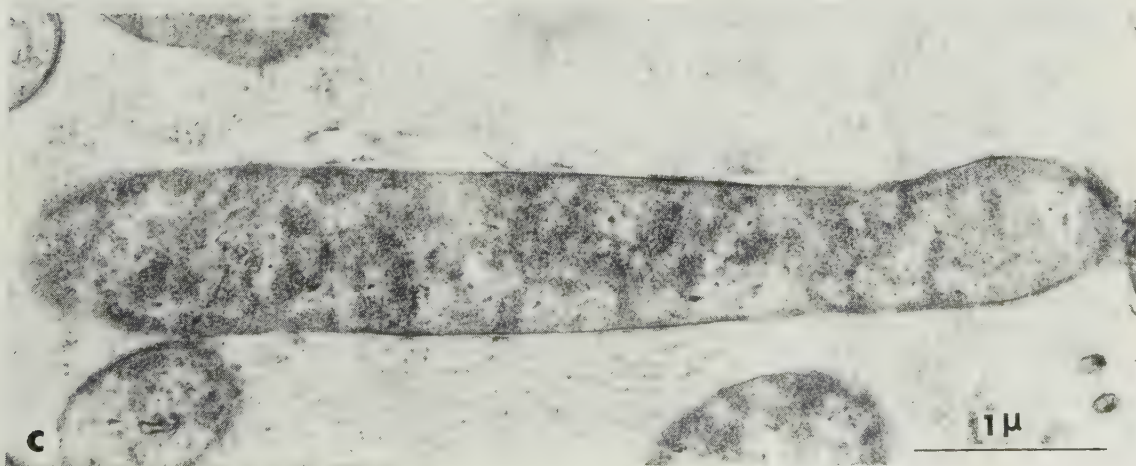
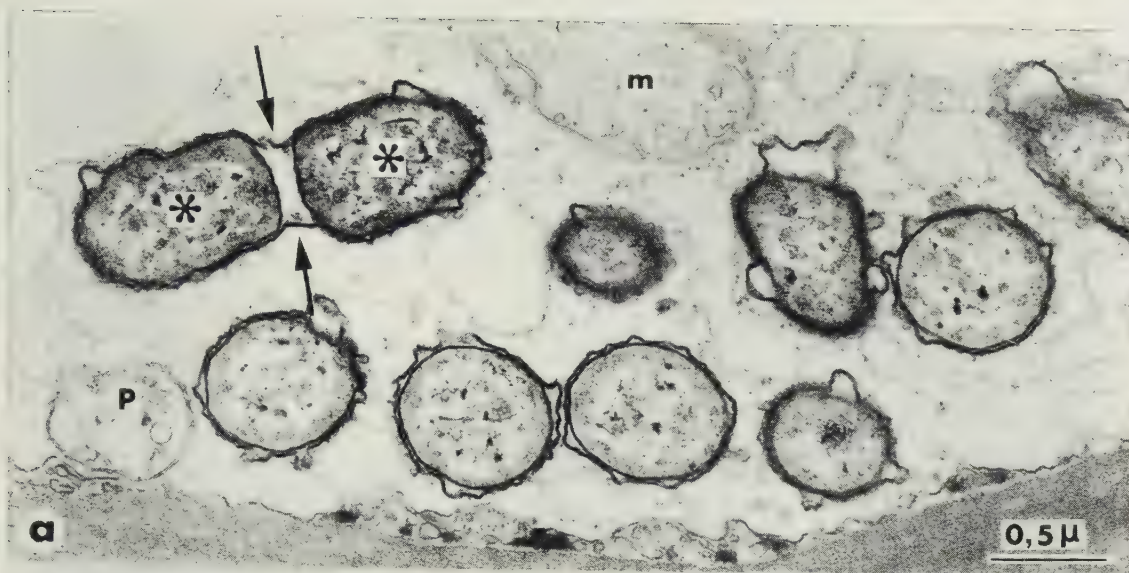
Enclavé dans une vacuole *Rhizobium trifolii* se divise encore quelquefois (flèches). m : mitochondrie; P : plaste.

HISTOIRE DE *RHIZOBIUM TRIFOLII*

La croissance en longueur

Après sa dernière division, *Rhizobium* s'allonge (Fig. b et c). Sa longueur augmentera de 5 ou 6 fois. C'est la période filamenteuse qui s'observe dans la zone II du nodule. Dans la figure c *Rhizobium* mesure au moins 5 microns. Son nucléoïde s'est maintenant dispersé dans toute la longueur de la bactérie. nu : nucléoïde.

(Fig. a et b : Gourret et Fernandez-Arias, *Can. J. Microbiol.*, 20, 1169-1181, 1974)
(Fig. d : non publié)



La croissance en largeur

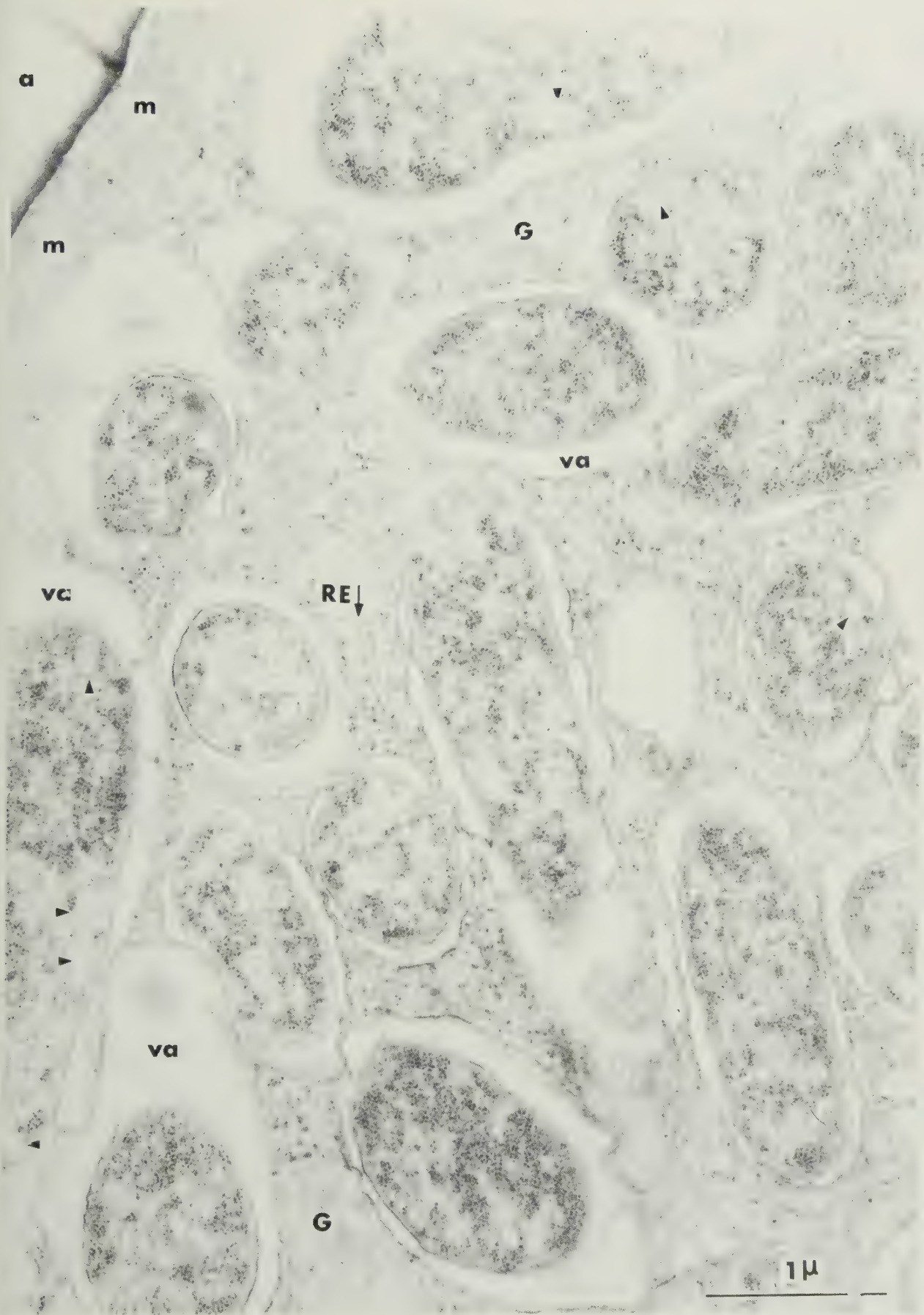
Rhizobium fait maintenant partie de la zone-III du nodule. Il s'est gonflé et accru en largeur. C'est maintenant un bactéroïde. Son nucléoïde se disperse dans toute la masse de la cellule et se trouve intriqué entre les zones occupées par les ribosomes. Noter, au passage, que ceux-ci sont plus petits et plus proches les uns des autres que ceux du trèfle. Tous ces ribosomes témoignent d'une synthèse protéique intense à la fois dans *Rhizobium* et dans sa cellule-hôte. Quelques vésicules sont apparues en dessous de la membrane plasmique de *Rhizobium* (►). Notons aussi que les mitochondries (m) et les plastes (P) ne se rencontrent plus parmi les *Rhizobium* mais se sont ségrégués sur le pourtour de la cellule-hôte. On en distingue une partie en haut et à gauche de la photographie.

a : amidon; G : dictyosome; m : mitochondrie; RE : reticulum endoplasmique; va : vacuole contenant un bactéroïde.

(Gourret et Fernandez-Arias, *Can. J. Microbiol.*, 20, 1169-1181, 1974).

Conventions d'ordre sémantique utilisées pour l'ensemble de l'étude sur les nodules de Légumineuses :

- 1) Nous appellerons "bactéroïdes" les formes bactériennes qui se rencontrent dans la zone rouge des nodules et qui ont subi une transformation notable de leur forme et de leur taille par rapport aux *Rhizobium* de départ tels qu'ils s'observent dans les cordons d'infection.
- 2) Nous appellerons "bactéries différenciées" les *Rhizobium* qui se rencontrent dans la zone rouge des nodules de certaines Légumineuses mais qui n'ont pas subi de transformations morphologiques notables (ces *Rhizobium* restant en bâtonnets).
- 3) Nous désignerons sous le nom composé de "bactéries-bactéroïdes" la réunion des deux cas précédents.

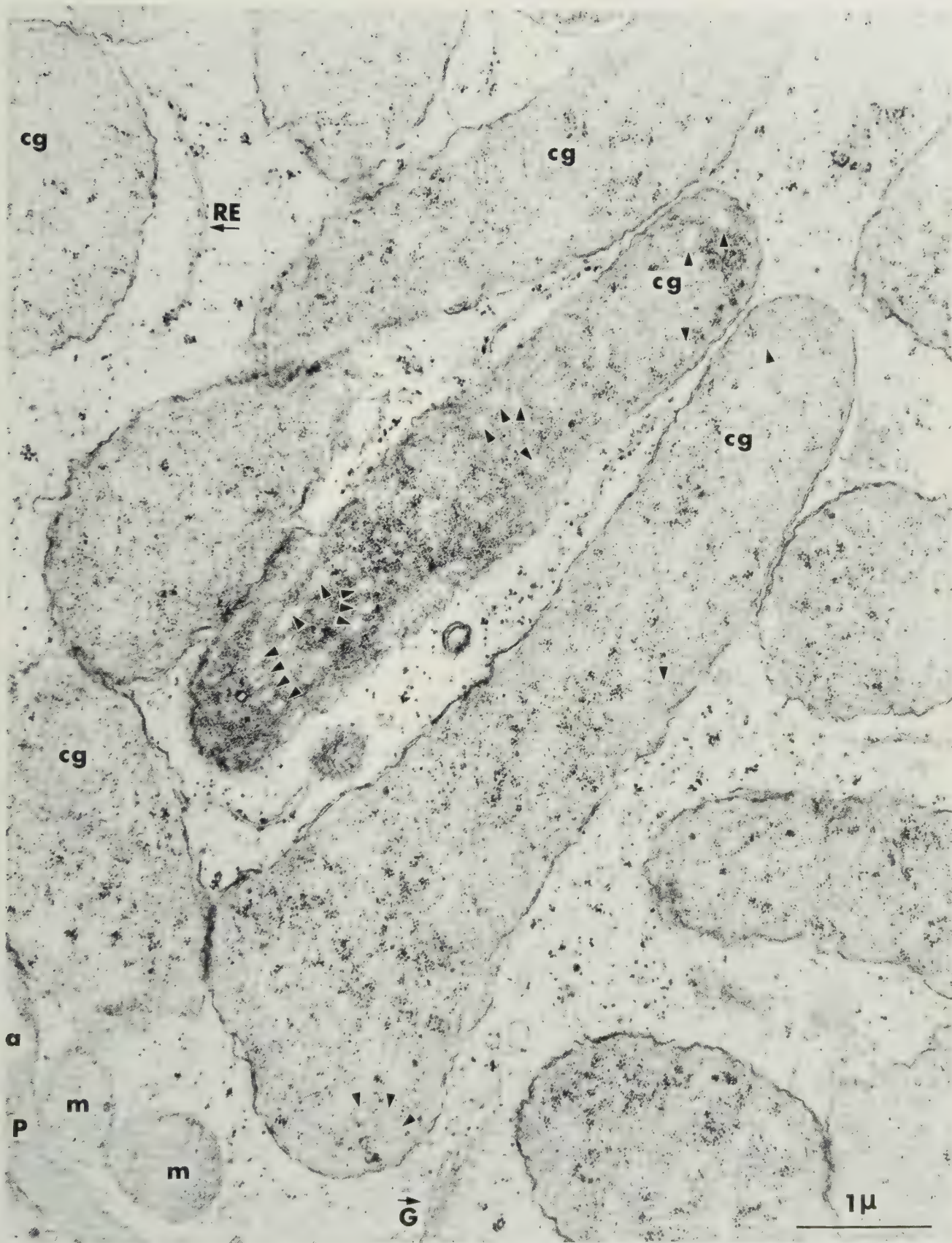


La croissance continue

Le nucléoïde de *Rhizobium trifolii* s'est tellement dispersé qu'il serait hasardeux d'en chercher les limites. Les ribosomes sont toujours aussi nombreux. Les vésicules indiquées par des pointes de flèches (►) deviennent plus nombreuses dans ces énormes *Rhizobium* dont une extrémité s'élargit. Des amas granuleux sont apparus dans des zones correspondant à des portions élargies du nucléoïde dispersé (cg). La paroi cellulosique, le plasmalemme, un plaste amylofère et des mitochondries (toujours dans cet ordre) apparaissent dans le coin en bas à gauche.

a : amidon; G : dictyosome; m : mitochondrie; P : plaste; RE : reticulum endoplasmique.

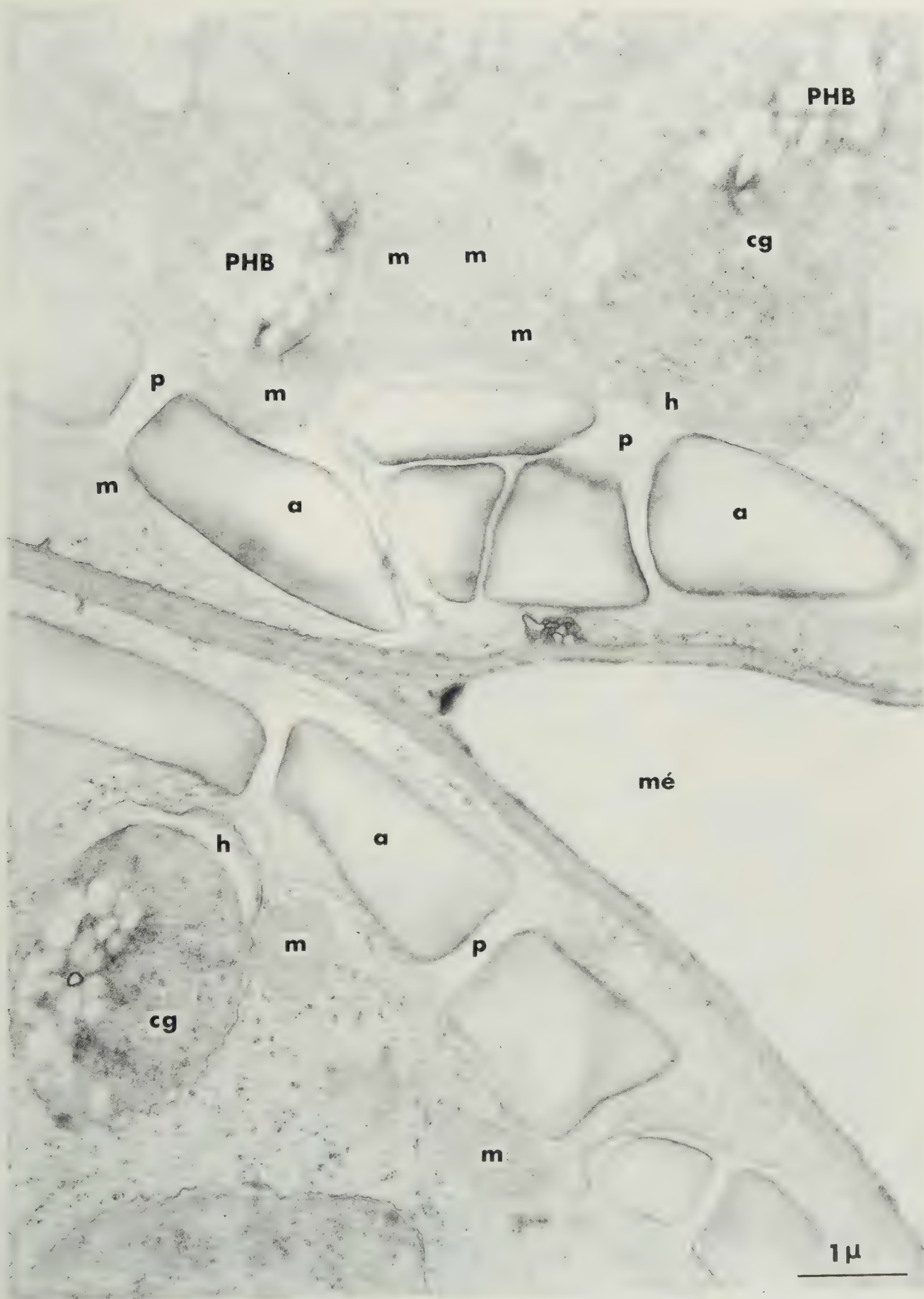
(Gourret et Fernandez-Arias, *Can. J. Microbiol.*, 20, 1169-1181, 1974).



Rhizobium trifolii est devenu piriforme

La croissance en largeur ayant continué, *Rhizobium trifolii* est maintenant piriforme. Il pourra plus tard devenir complètement sphérique. La position relative des méats aërifères (mé), de la paroi cellulosique, du plasmalemma, des plastes (P) contenant de grosses plaquettes d'amidon (a), des mitochondries (m) et des bactéroïdes, est ici caractéristique. Les bactéroïdes se sont chargés de gouttelettes de poly- β hydroxybutyrate (PHB). La leghémoglobine (h) est visible entre les bactéroïdes et leur membrane enveloppe.

(Gourret et Fernandez-Arias, *Can. J. Microbiol.*, 20, 1169-1181, 1974).



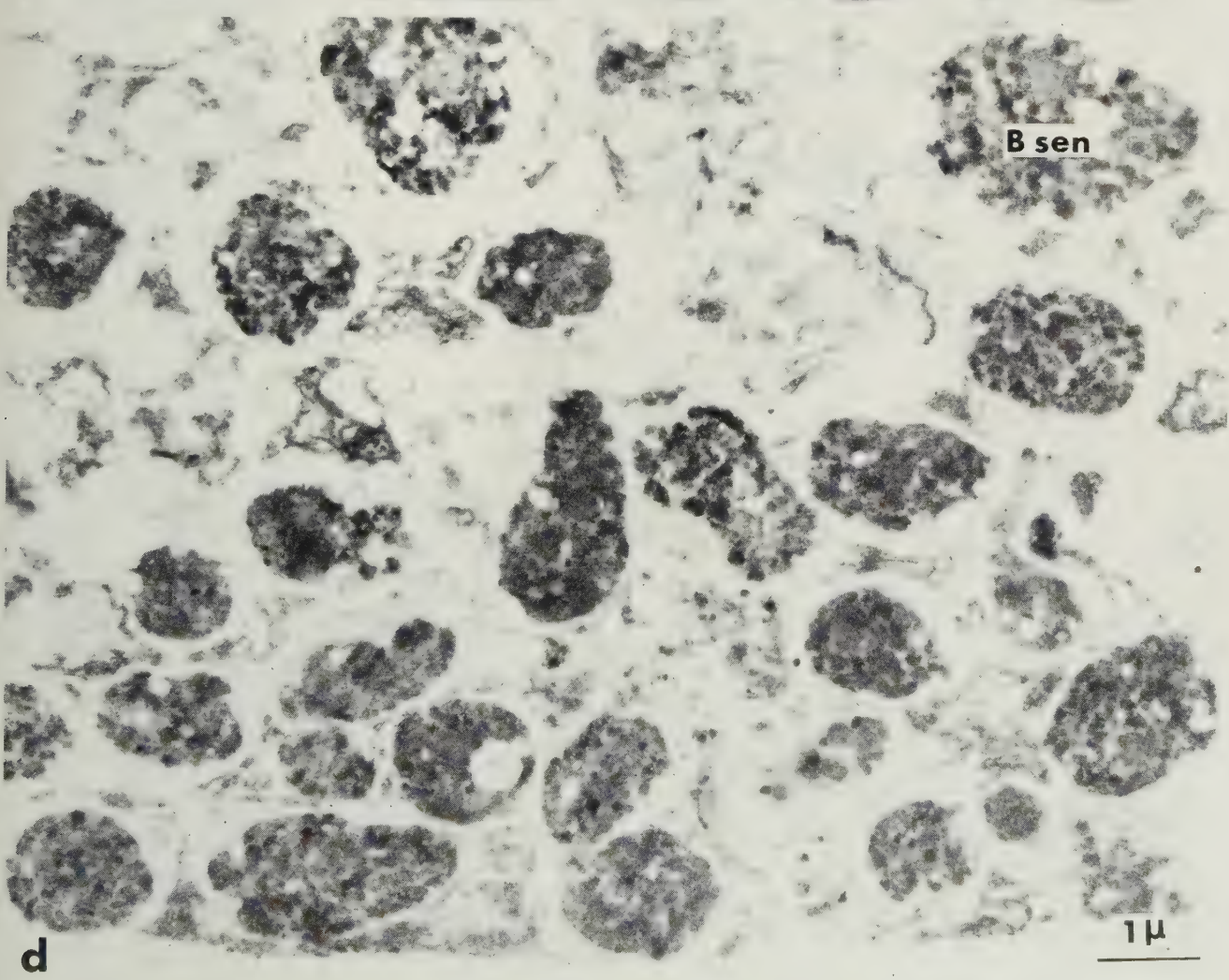
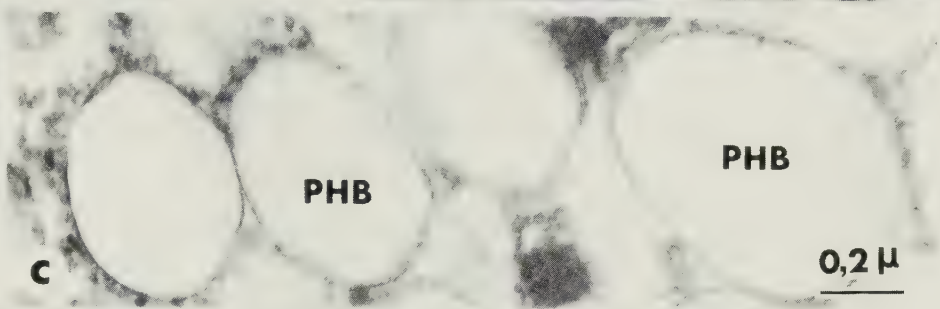
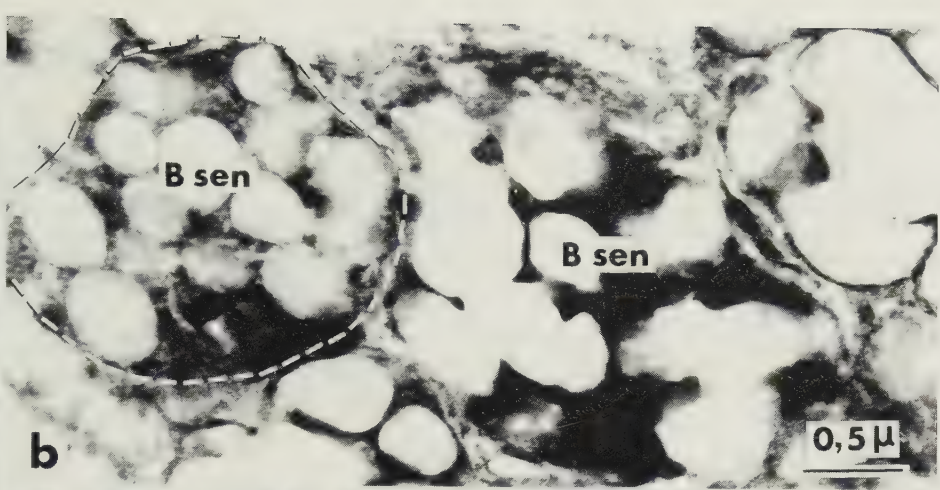
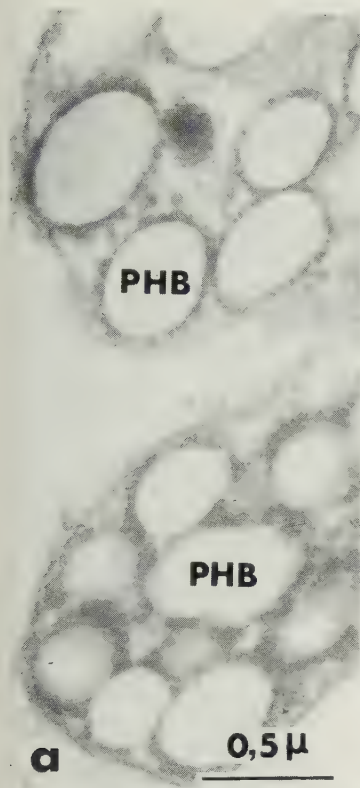
La mort de *Rhizobium trifolii* dans la zone IV

Après plusieurs semaines de vie symbiotique au cours desquelles il y a eu fixation d'azote, *Rhizobium* et sa cellule-hôte meurent en même temps. Les bactéroïdes qui peuvent contenir d'énormes gouttelettes de poly- β hydroxybutyrate (PHB) se désorganisent progressivement (B sen). Ces gouttelettes semblent être limitée par une membrane; il s'agit en réalité d'une pellicule dense aux électrons mais n'ayant pas la structure d'une membrane unitaire.

Dans la figure d, la forme en poire des bactéroïdes est encore discernable. Les restes lysés, de la cellule-hôte sont dispersés parmi les bactéroïdes.

(Fig. a, b et c. Gourret et Fernandez-Arias, *Can. J. Microbiol.*, 20, 1169-1181, 1974)

(Fig. d. original, non publié)



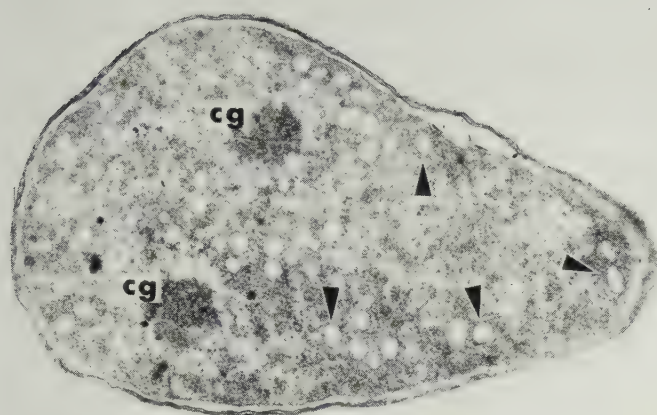
- Fig. a - Bactéroïde piriforme d'un nodule de *Trifolium repens* L. Deux corps granuleux et de nombreuses vésicules sont visibles(►)
- Fig. b - Bactéroïde d'un nodule de *Trifolium incarnatum* L. Le corps granuleux se devine au centre du bactéroïde. Des vésicules allongées sont bien visibles.
- Fig. c - Bactéroïde d'un nodule de *Trifolium pratense* L. Un corps granuleux et des vésicules périphériques sont visibles.
- Fig. d - Bactéroïde d'un nodule de *Trifolium filiforme* L. Deux corps granuleux et quelques vésicules sont visibles.
- Fig. e - Bactéroïde d'un nodule de *Trifolium fragiferum* L. Un corps granuleux est visible au centre du bactéroïde. Les vésicules, quoique présentes, sont peu discernables sur ce cliché.
- Fig. f - Bactéroïde d'un nodule de *Trifolium squamosum* L. Quelques vésicules sont visibles. Leur contraste ainsi que celui de la substance h est accentué à cause de la réaction cytochimique à la diamino-benzidine qui leur a été appliquée. (voir Planches 45, 46 et 48).

Remarques générales sur ces bactéroïdes : 1) Dans ces coupages la membrane enveloppe a été maintenue; elle entoure donc chaque bactéroïde.

2) Les différences qui apparaissent entre ces six photographies ne doivent pas être considérées comme significatives. En effet les plantes de chaque espèce réagissent parfois différemment à une même fixation (en particulier il a été difficile d'obtenir des bons résultats avec *Trifolium fragiferum* L.). De plus, une seule section d'un bactéroïde donne rarement toutes ses caractéristiques.

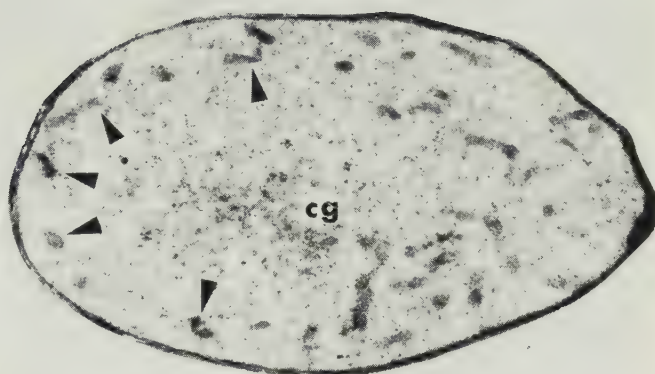
Néanmoins l'étude comparative, illustrée dans cette planche, montre que les bactéroïdes de tous les trèfles étudiés se ressemblent par leur grande taille, leur forme ovoïde ou piriforme, l'abondance des vésicules surtout à la périphérie, le nucléoïde dispersé aux limites souvent indiscernables, la présence de corps granuleux inclus dans certaines plages de ce nucléoïde et non pas parmi les ribosomes.

(originaux non publiés)



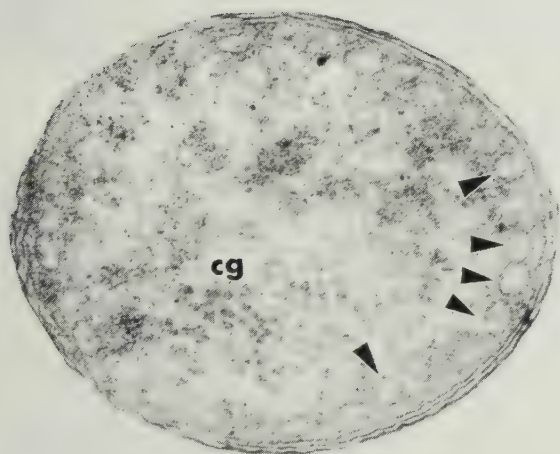
a

1 μ



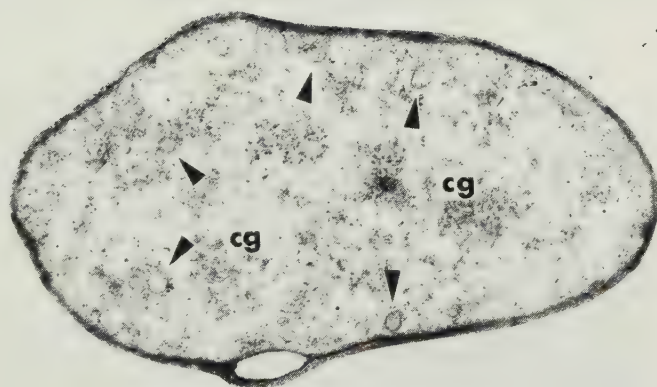
b

1 μ



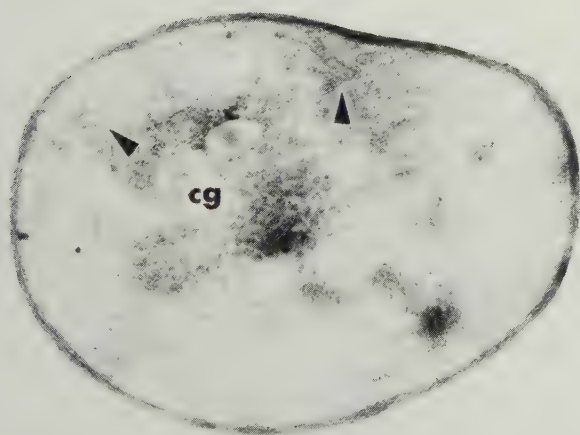
c

1 μ



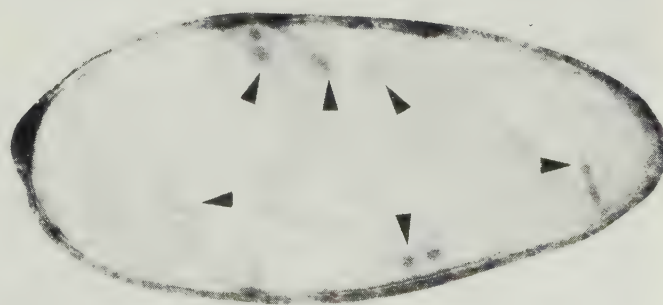
d

1 μ



e

1 μ



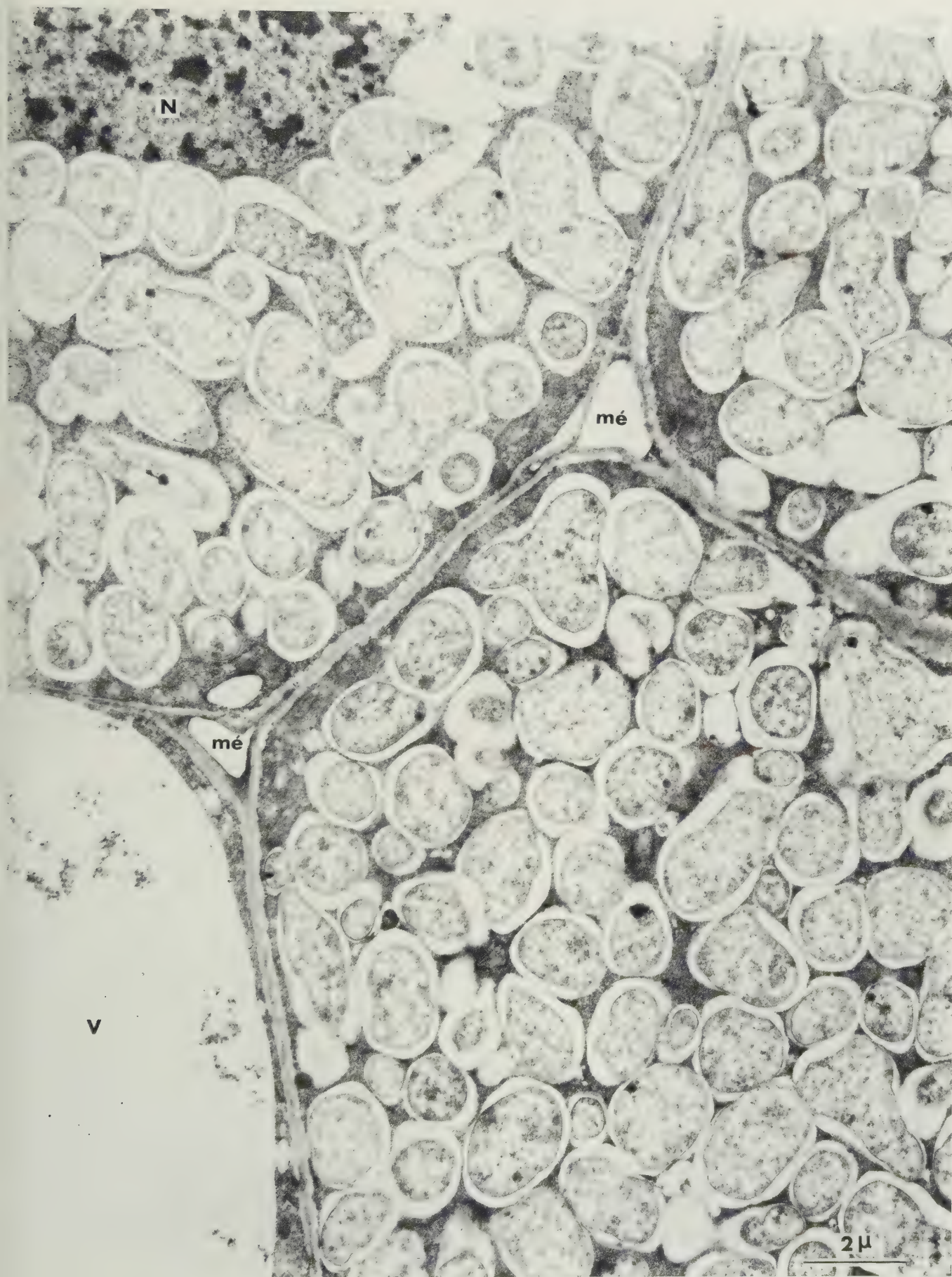
f

1 μ

Des quatre cellules dont on voit ici une partie, trois ont leur cytoplasme presque entièrement occupé par les bactéroïdes, aux contours arrondis, de *Rhizobium leguminosarum*. Ces bactéroïdes ont un nucléoïde clair et dispersé. La quatrième cellule en bas, à gauche, est une cellule non infectée, au cytoplasme réduit formant seulement une mince couche périphérique autour de la vacuole centrale (V). mé : méat aérifère; N : noyau.

Coupe dans le tissu rouge d'un nodule naturel de pois (*Pisum sativum* L.). Le *Rhizobium* est présumé être *Rhizobium leguminosarum* Frank.

(original non publié)



Comme *Rhizobium trifolii* dont nous avons relaté plus haut l'histoire, *Rhizobium leguminosarum* montre une croissance importante en volume lorsque la cellule où il se trouve devient partie intégrante de la zone III, la zone rouge fixatrice d'azote.

La figure (a) représente *R. leguminosarum* dans la zone II, la zone blanche où les bactéries montrent leurs dernières divisions et commencent leur croissance en volume. La ségrégation des mitochondries à la périphérie des cellules-hôtes n'est pas encore achevée. Les bactéries sont encore séparées par beaucoup d'espace cytoplasmique. Il n'y a pas encore de méats aérifères aux coins des cellules.

La figure (b) représente *R. leguminosarum* au début de la zone III. Le nucléoïde des bactéroïdes est clair et dispersé. Ces bactéroïdes vont encore augmenter de volume et changer leur forme. Noter dans le cytoplasme de la cellule-hôte l'abondance des ribosomes, du reticulum endoplasmique et la présence de dictyosomes (G).

Coupes dans la zone II et la zone III d'un nodule naturel d'une vesce (*Vicia sativa* L.). Le *Rhizobium* est présumé être *Rhizobium leguminosarum* Frank.

(original non publié)

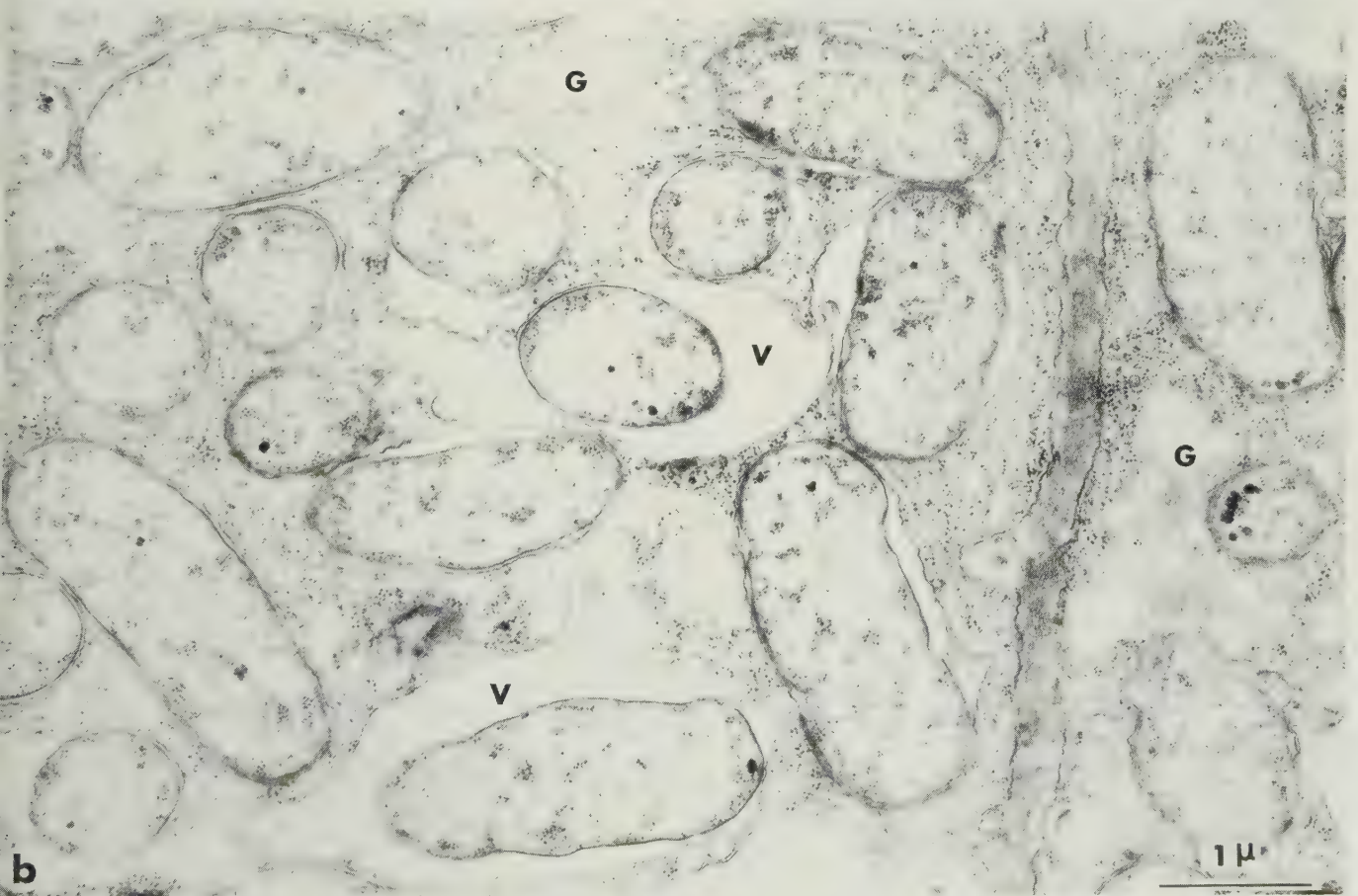
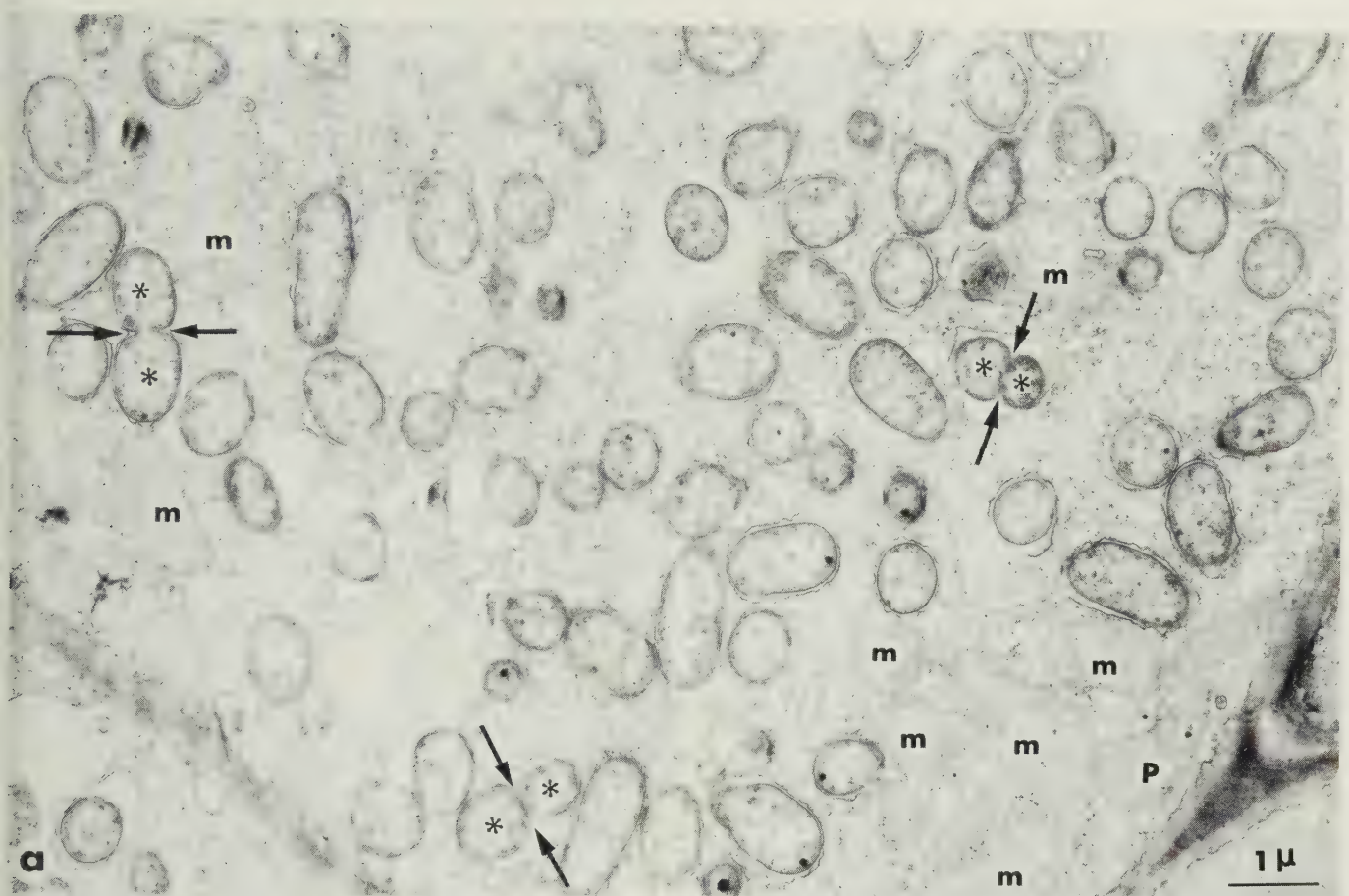


Fig. a - Bactéroïde d'un nodule de pois (*Pisum sativum* L.).

Fig. b - Bactéroïde d'un nodule de *Vicia hirsuta* L. Noter la double dichotomie en Y du bactéroïde (Y → Y) et la présence de corps granuleux. (cg).

Fig. c - Bactéroïde d'un nodule de *Vicia sativa* L.

Fig. d - Bactéroïde d'un nodule de *Lathyrus tuberosus* L. Des vésicules périphériques sont visibles dans ce bactéroïde(►)

Remarques générales sur ces bactéroïdes :

1) Dans ces découpages la membrane enveloppe a été conservée autour des bactéroïdes. Dans la figure b, de la leghémoglobine (h) se trouve préservée.

2) Malgré les restrictions évoquées dans la planche 23, l'étude comparative illustrée dans cette planche montre que les bactéroïdes des *Viciae* étudiées, se ressemblent par leur grande taille, leur forme en Y simple ou ramifié de manière dichotome plus complexe, le nucléoïde clair et dispersé aux limites indiscernables, la présence occasionnelle de corps granuleux au niveau de certaines plages du nucléoïde, et de vésicules en position périphérique.

(originaux non publiés)



a

1 μ



b

1 μ



c

1 μ



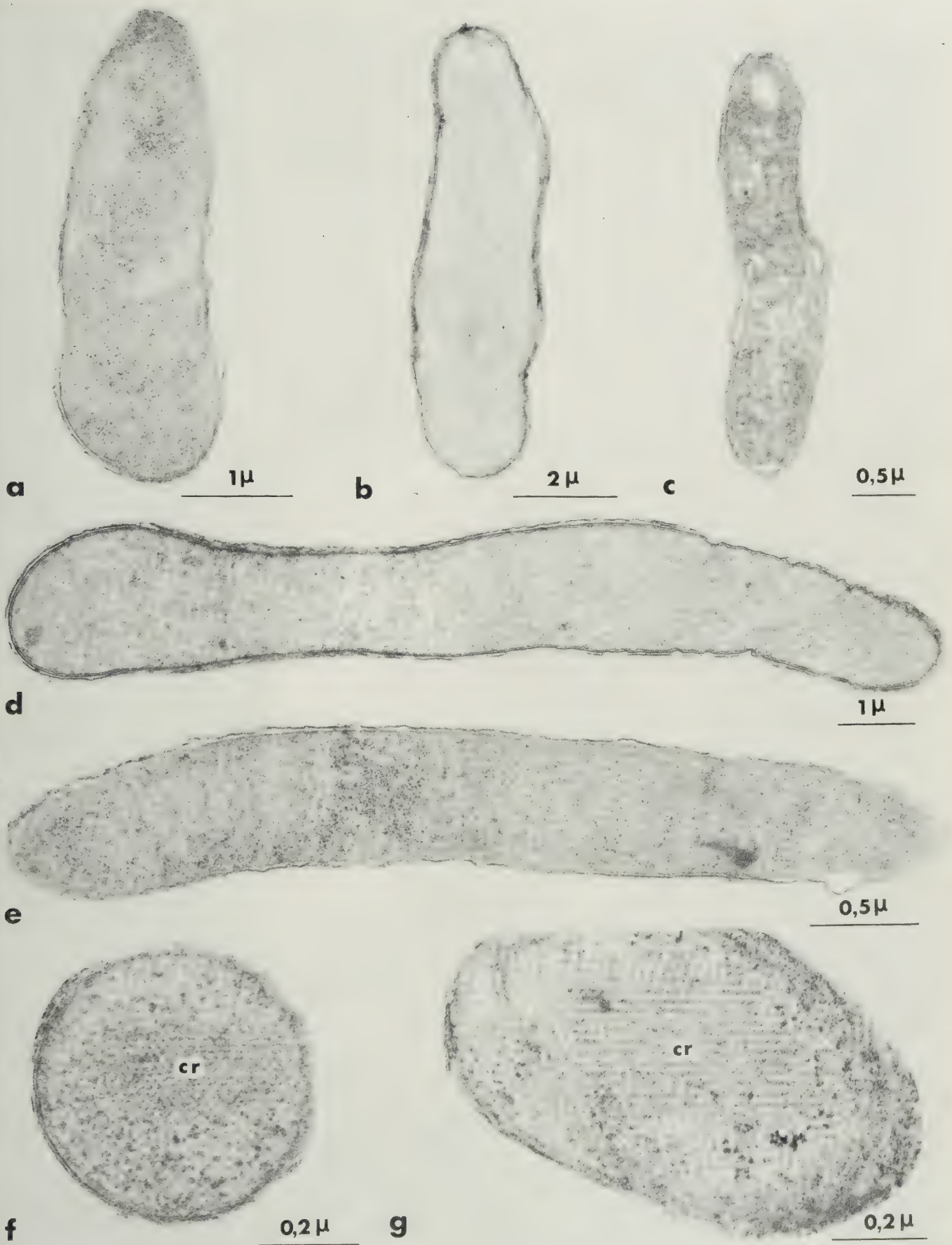
d

1 μ

- Fig. a : bactéroïde de *Medicago sativa* L., en coupe longitudinale et entouré de sa membrane enveloppe. Nodule naturel récolté dans la dune littorale de la Guimorais (Ille et Vilaine).
- Fig. b : bactéroïde de *Medicago lupulina* L., en coupe longitudinale, et entouré de sa membrane enveloppe. Nodule naturel récolté dans la dune littorale de Guendrez (Finistère).
- Fig. c : bactéroïde de *Medicago maculata* Sibth., en coupe longitudinale, et entouré de sa membrane enveloppe. Nodule naturel formé en serre après semis de *M. maculata* dans la terre du campus de Beaulieu (Rennes).
- Fig. d : bactéroïde de *Medicago minima* L., en coupe longitudinale, et entouré de sa membrane enveloppe. Nodule naturel récolté dans la dune littorale de Guendrez (Finistère). Noter l'énorme longueur du bactéroïde (plus de 16 microns!).
- Fig. e, f, g : bactéroïdes de *Galega officinalis* L. en coupe longitudinale (e) et transversale (f et g). Le bactéroïde (e) est entouré de sa membrane enveloppe; les bactéroïdes vus en (f) et (g) ne le sont pas. Ces deux dernières figures illustrent la présence d'une structure paracristalline assez fréquente dans les bactéroïdes de *Galega officinalis*. Il sera intéressant de voir si de telles structures ont un rapport avec la nitrégénase. En effet leur analogie avec les inclusions "striées-punctuées" contenues dans les filaments et surtout dans les vésicules des nodules à Actinomycètes fixateurs d'azote, est assez troublante. Coupes dans un nodule naturel de *Galega officinalis* en croissance subspontanée sur le campus de Beaulieu (Rennes).

Bien que *Galega* ne soit pas habituellement inclus dans le groupe à *Rhizobium melitoti*, nous l'avons placé ici en raison de la forme et de la structure des bactéroïdes observés dans ses nodules. Une étude bactériologique complémentaire sera évidemment nécessaire pour attribuer les *Rhizobium* des nodules de *Galega* à tel ou tel groupe d'inoculation. (Cette remarque est d'ailleurs valable pour tous les nodules que nous avons étudiés). Remarque générale sur les bactéroïdes de cette planche : leur nucléoïde est généralement si dispersé qu'il cesse d'être discernable.

(originaux, non publiés)



CORPS GRANULEUX
DES BACTEROIDES
DES TREFLES, DES VESCES OU DES LUZERNES

Fig. a, d, e, f, g, h : corps granuleux (cg) dans des bactéroïdes de nodules de *Trifolium repens* L.

Fig. b : corps granuleux (cg) dans un bactéroïde de nodule de *Vicia hirsuta* L.

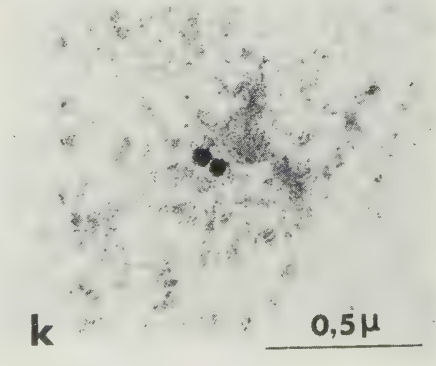
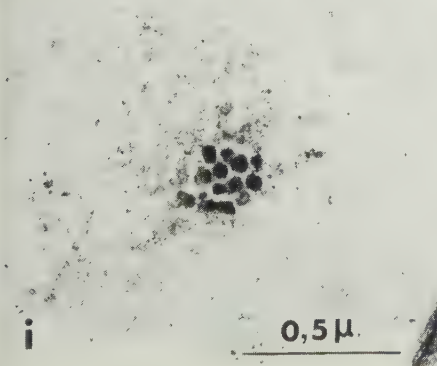
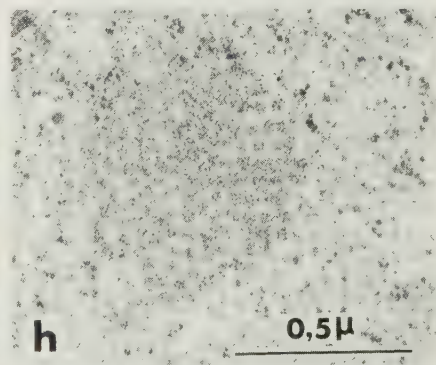
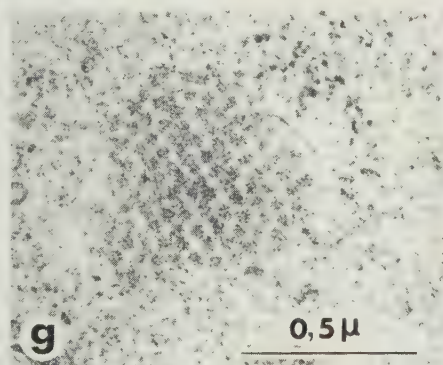
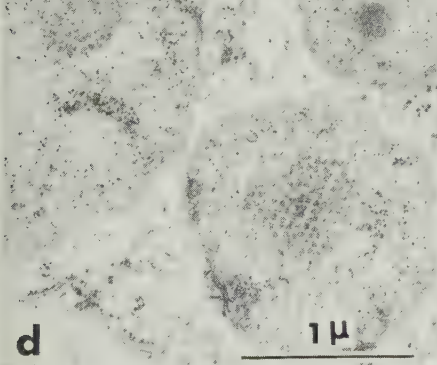
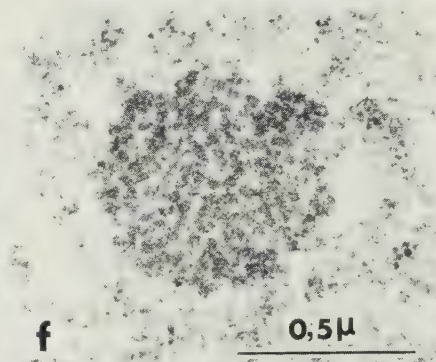
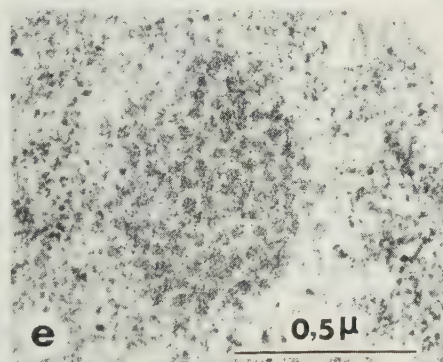
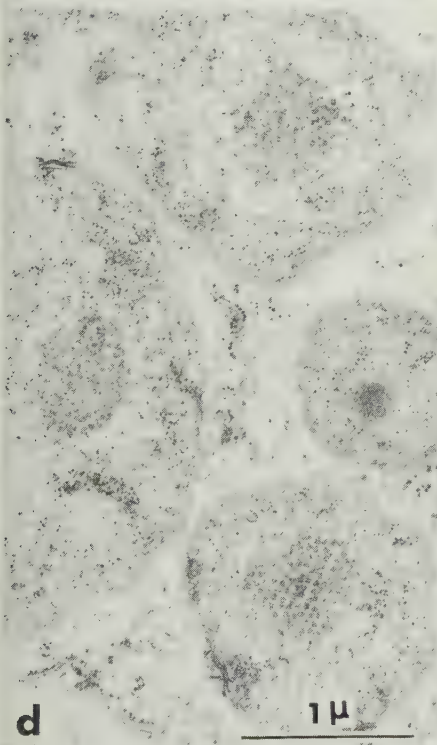
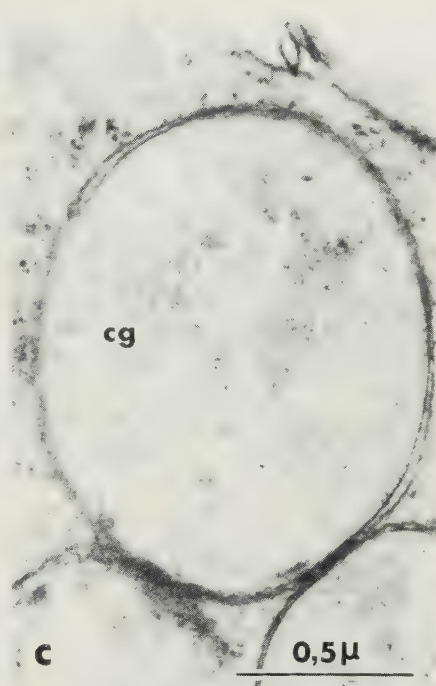
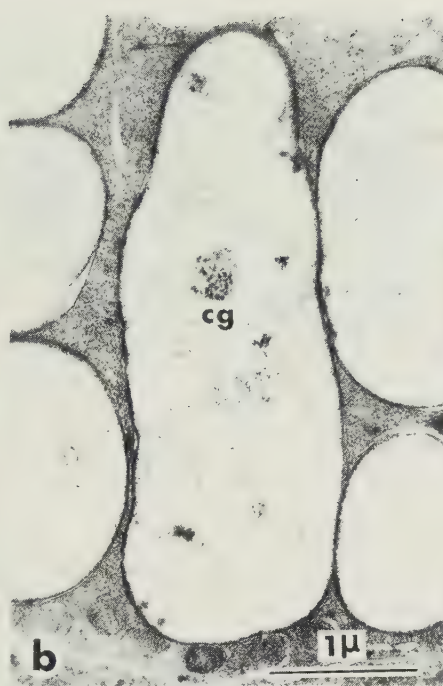
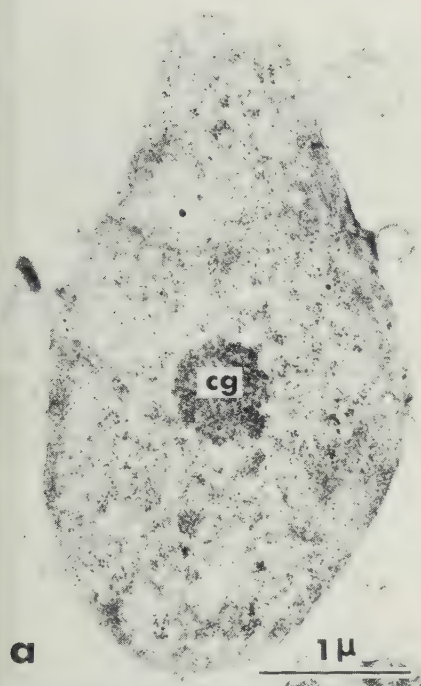
Fig. c : corps granuleux (cg) dans un bactéroïde de nodule de *Medicago sativa* L.

Fig. e, g : agrandissements de la figure d.

Fig. f : agrandissement de la figure a.

Fig. i, j, k : corps granuleux des bactéroïdes de nodules de *Trifolium filiforme* L. Certains granules sont ici très osmiophiles.

(originaux non publiés sauf Fig. d, e, g : Gourret et Fernandez-Arias, *Can. J. Microbiol.*, 20, 1169-1181, 1974).

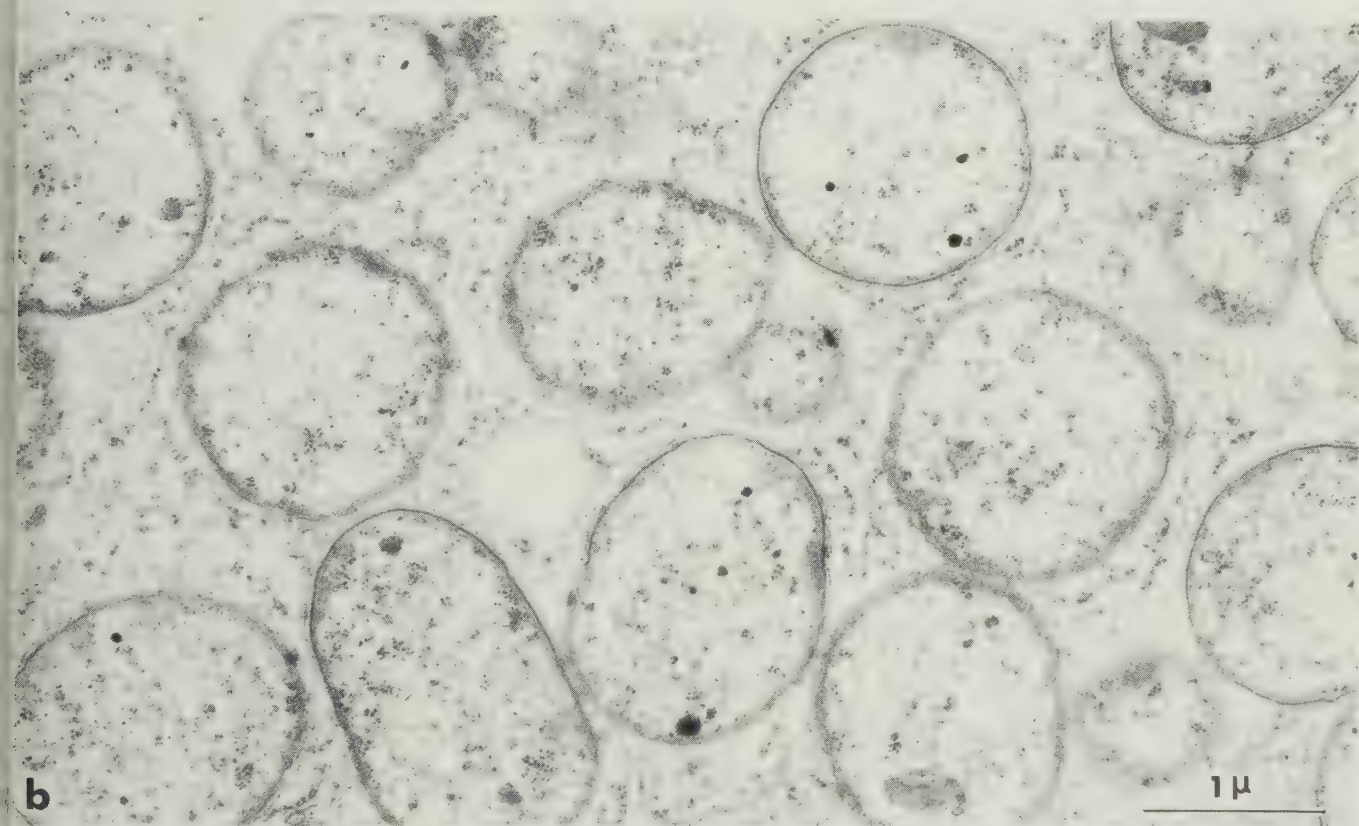
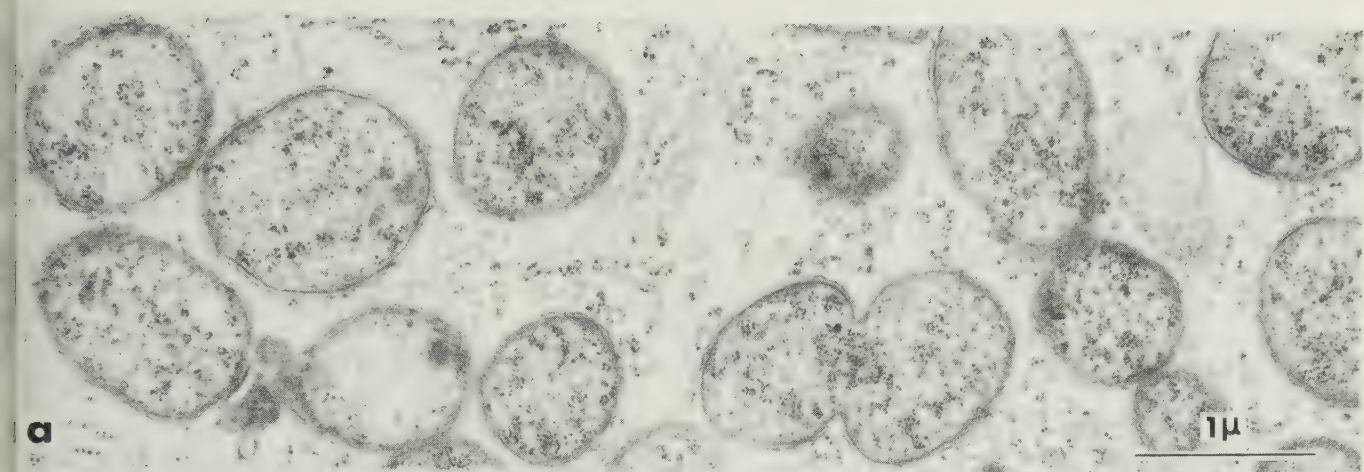


Trois stades du développement

- Fig. a : bactéries dans la zone II. Ces bactéries, assez denses aux électrons, montrent un début de croissance en volume.
- Fig. b : bactéroïdes de la zone III, zone rouge, fixatrice d'azote. Les nucléoïdes sont clairs et dispersés. Les *Rhizobium* et leur cellule-hôte montrent de très nombreux ribosomes. Une couche dense semble border intérieurement la membrane plasmique des bactéroïdes.
- Fig. c : bactéroïdes de la zone III montrant un début de sénescence. Les bactéroïdes devenus très volumineux contiennent un système de baguettes cylindriques denses aux électrons, vus en coupe longitudinale (bl) et en coupe transversale (bt). Les astérisques désignent 2 sphérules faisant partie de la même cellule.

Coupes dans les zones II et III d'un nodule naturel d'*Astragalus bayonensis* L. récolté en arrière de la dune de galets littoraux de Tréguennec (Finistère).

(originaux, non publiés)



Des plastes amyliifères et des mitochondries voisinent le méat aérifère (mé) visible dans cette figure. Les bactéroïdes à nucléoïde clair et dispersé, ont la forme de globules simples ou groupés par deux (astérisques).

Coupe dans la zone III -zone rouge fixatrice d'azote- d'un nodule naturel d'*Astragalus bayonensis* L. récolté en arrière de la dune de galets littoraux de Tréguennec (Finistère).

a : amidon; mé : méat aérifère; m : mitochondrie; RE : reticulum endoplasmique; V : vacuole centrale de la cellule.

(original non publié)



Fig. a : bactéroïdes ovoïdes d'une cellule infectée du tissu rouge (zone III) d'un nodule de *Lotus corniculatus* L. récolté dans la dune de sables littoraux de Guendrez (Finistère).

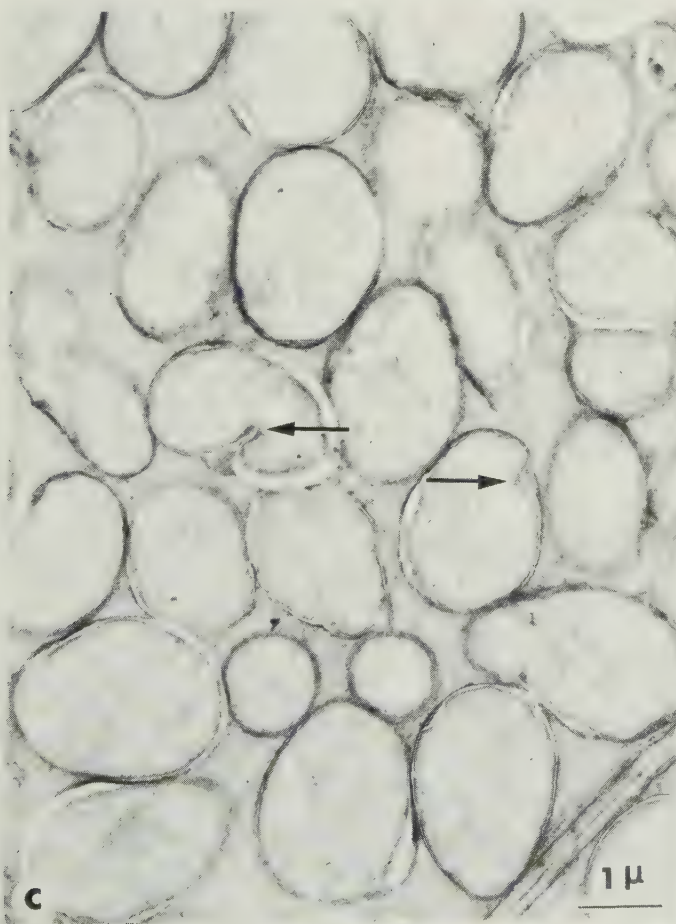
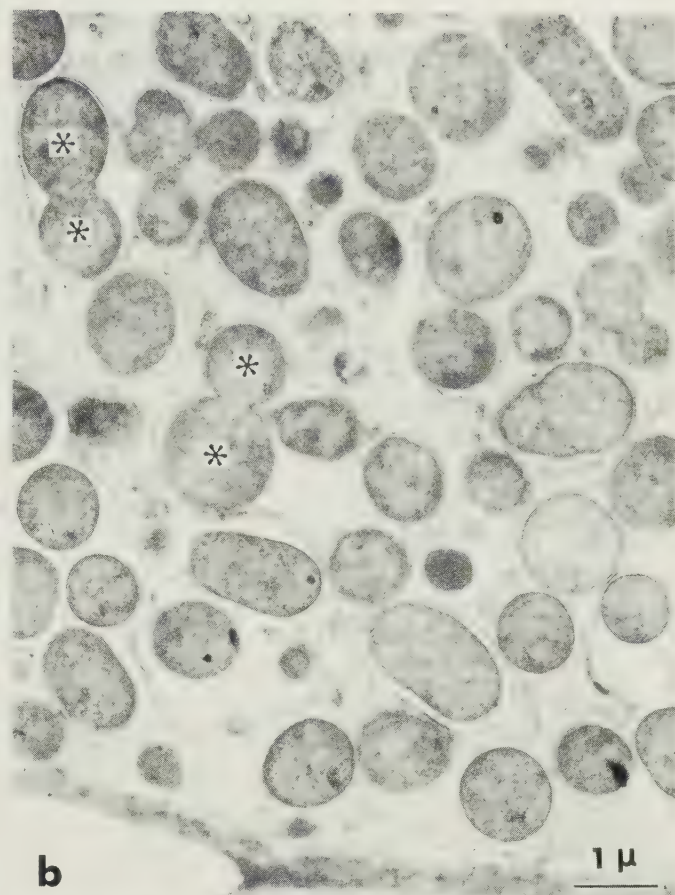
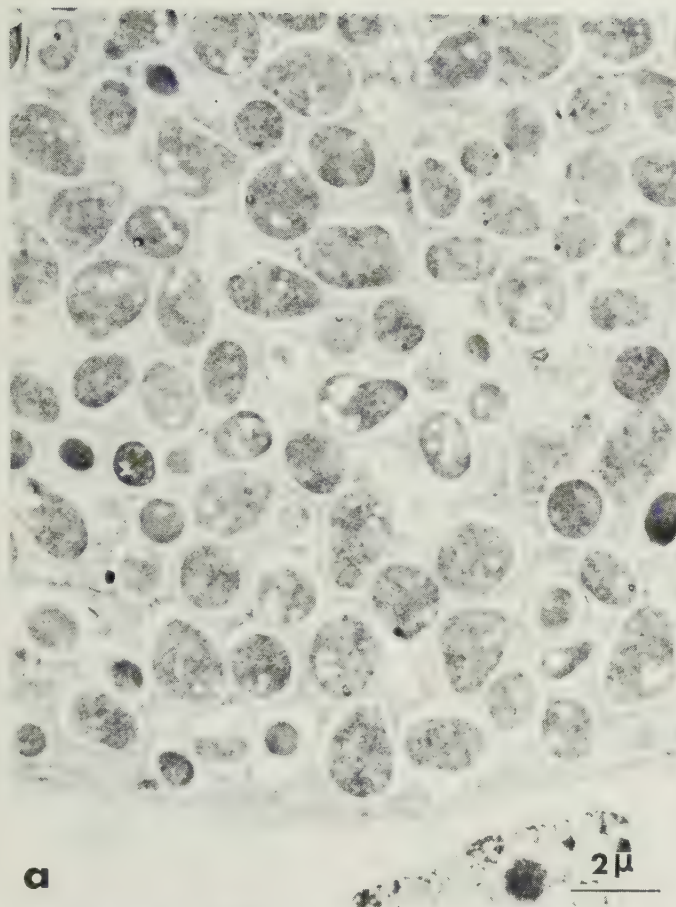
Fig. b : bactéroïdes de forme oblongue ou en sphérules simples ou groupées par deux (astérisques) d'une cellule infectée du tissu rouge (zone III) d'un nodule d'*Anthyllis vulneraria* L. récolté dans la dune de sables littoraux de Guendrez (Finistère).

Fig. c : bactéroïdes ovoïdes d'une cellule infectée du tissu rouge (zone III) d'un nodule d'*Ononis repens* L. récolté dans la dune de sables littoraux de Guendrez (Finistère). Les sillons marqués d'une flèche sont vraisemblablement des artefacts de fixation.

Fig. d : bactéroïdes globuleux simples ou groupés par deux (astérisques) d'une cellule infectée du tissu rouge (zone III) d'un nodule d'*Astragalus bayonensis* L. récolté en arrière de la dune de galets littoraux de Tréguennec (Finistère).

Remarque générale pour les bactéroïdes de ces quatre espèces : ces bactéroïdes se ressemblent beaucoup par leur taille, leur forme, leur nucléoïde clair et dispersé. Etant donné que ces légumineuses vivent dans le même type de biotope il y a de grandes chances qu'elles appartiennent au même groupe d'inoculation. Il sera intéressant de tester expérimentalement cette hypothèse.

(originaux, non publiés)

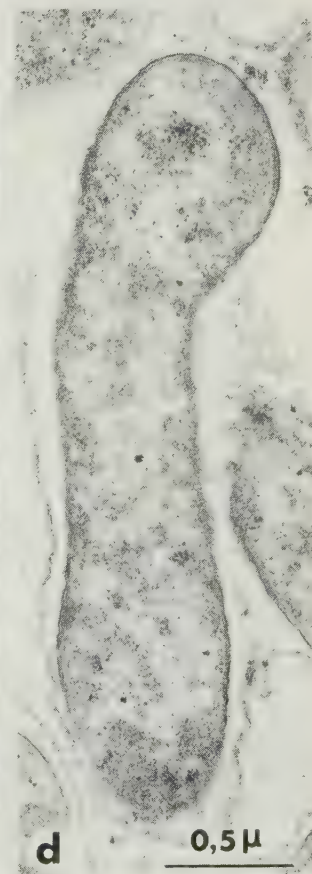
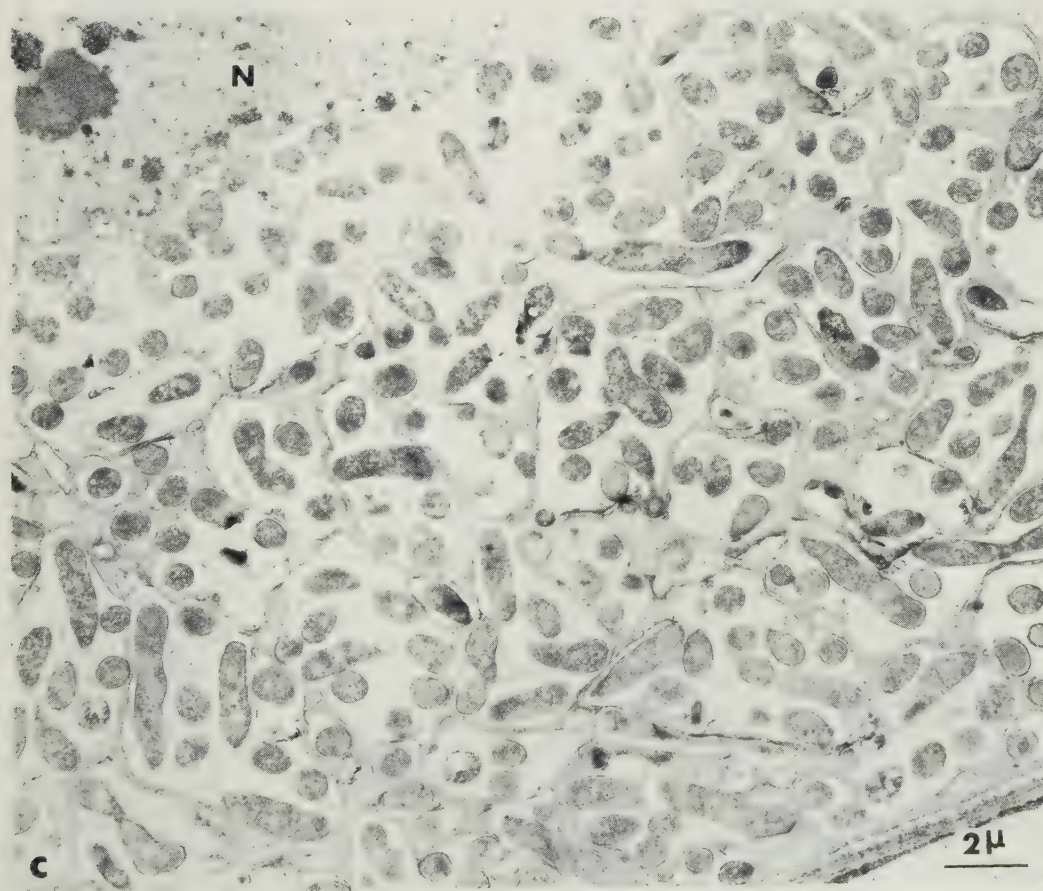
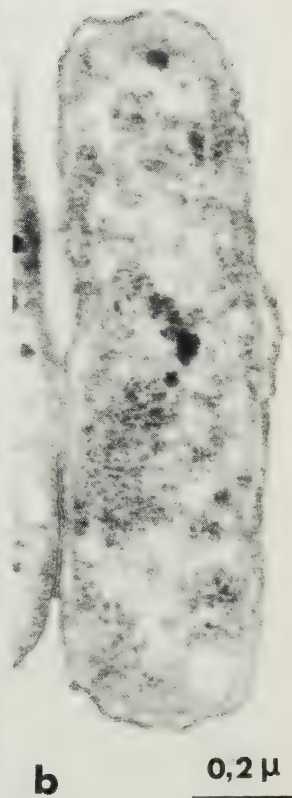
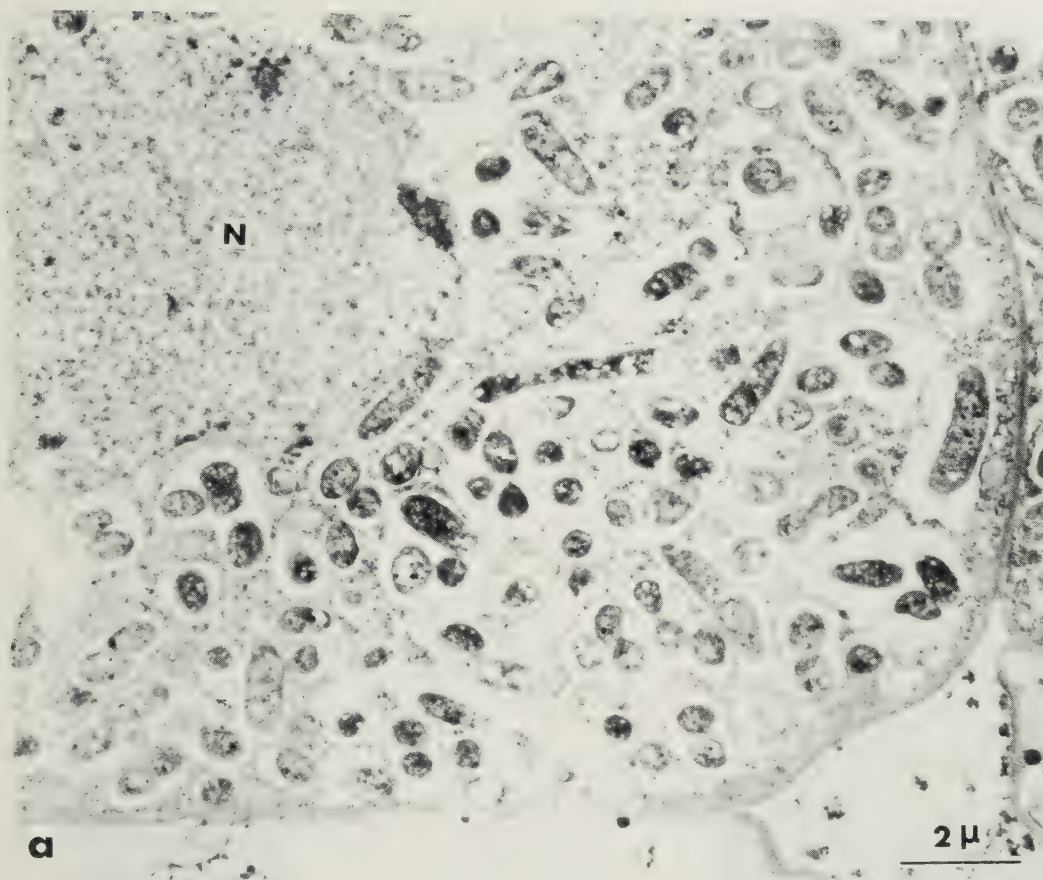


Dans cette cellule du tissu rouge (zone III) d'un nodule de haricot (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivé en pleine terre à Trologot (Finistère) le *Rhizobium* appartient vraisemblablement à l'espèce *phaseoli* (*Rhizobium phaseoli* Dangeard). Les *Rhizobium*, ici, sont restés en bâtonnets et plusieurs peuvent se trouver enclavés dans la même vacuole. Leur nucléoïde est clair et dispersé (Fig. b). Les granules denses aux électrons sont vraisemblablement du glycogène (voir planche 44).

NODULE DE *ROBINIA PSEUDOACACIA*

Dans cette cellule du tissu rouge (zone III) d'un nodule de *Robinia pseudoacacia* L., planté sur le campus de Beaulieu (Rennes), les bactéries sont aussi restées en bâtonnets. Elles se trouvent groupées à plusieurs dans la même vacuole. Leur nucléoïde est clair et dispersé (Fig. b).

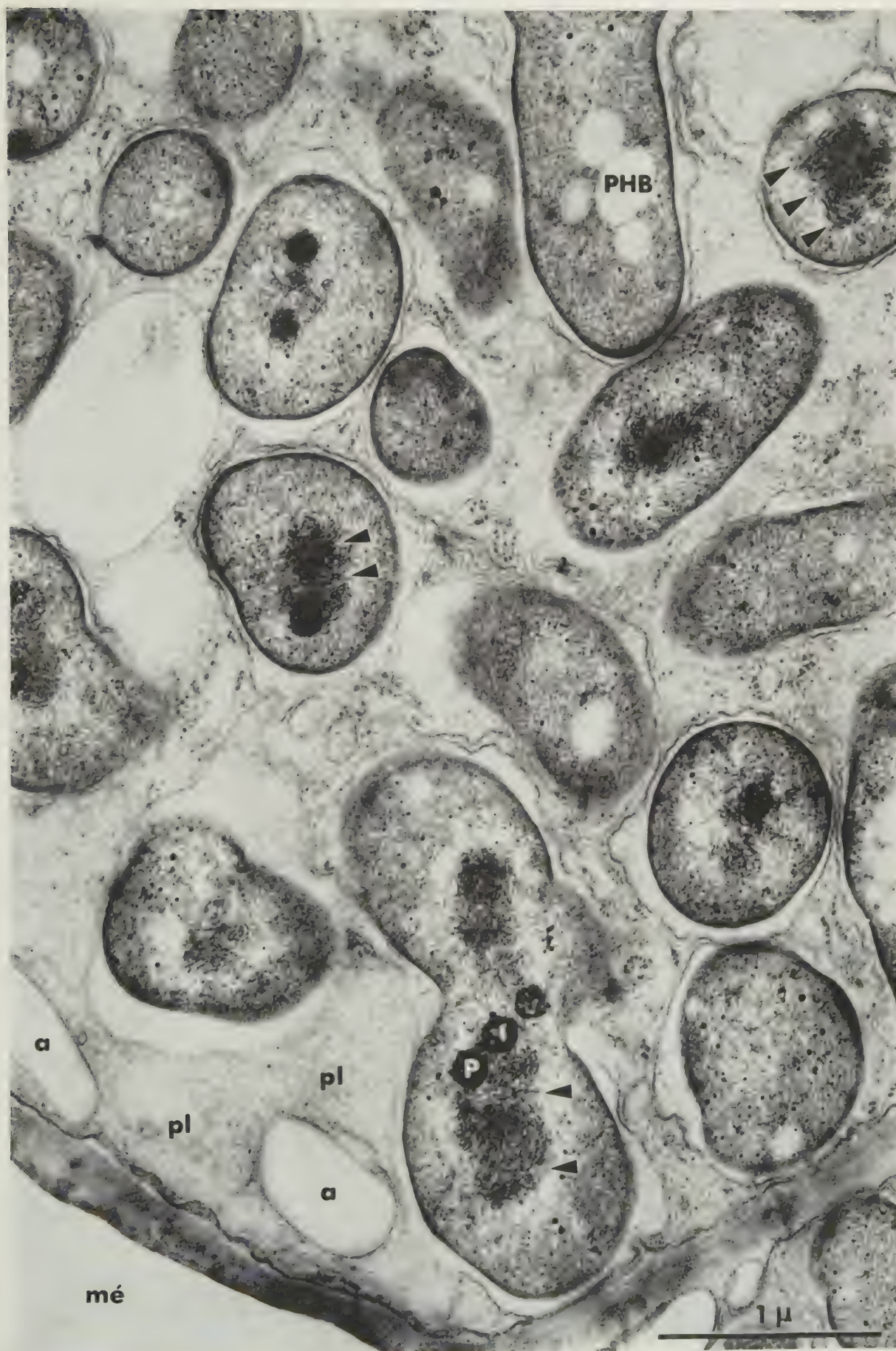
(originaux non publiés)



Dans tous les bactéroïdes ou bactéries-différenciées présentés dans les planches précédentes, le nucléoïde apparaissait toujours plus clair que le "cytoplasme" bactérien. Comme nous le discuterons plus loin, cette situation est caractéristique des bactéries-bactéroïdes formés par les *Rhizobium* à croissance rapide. Avec les bactéroïdes du genêt nous débutons la série des *Rhizobium* à croissance lente. Ces *Rhizobium* donnent des bactéroïdes ou des bactéries différenciées dont le nucléoïde possède certains traits caractéristiques, assez remarquables en microscopie électronique.

Dans cette vue partielle d'une cellule du tissu rouge (zone III) d'un nodule de *S. scoparius*, on distingue une partie d'un méat aërifère intercellulaire (mé). Faisant face à ce méat, se trouve le plastidome (pl) montrant ici, deux grains d'amidon (a). Le trait le plus frappant des bactéroïdes c'est la densité de leur nucléoïde. De plus, celui-ci apparaît fibreux et montre une périodicité qui est soulignée par les pointes de flèches (►). Des globules très denses aux électrons l'accompagnent également. Leur centre s'est parfois vidé de sa substance. En microscopie électronique ces globules apparaissent comme des points métachromatiques, rouges après coloration des coupes par le bleu de toluidine. Par analogie avec les résultats d'autres auteurs (en particulier Craig et Williamson, 1972) il y a tout lieu de penser qu'il s'agit de globules de polyphosphates. Les gouttelettes claires correspondent au poly- β -hydroxybutyrate (PHB).

(soumis pour publication au *J. Microscopie* 1975).



Au centre de la photographie, un nucléoïde globuleux, fibreux, dense aux électrons, montre une structure périodique soulignée par les pointes de flèches (►). P : globule de polyphosphates; PHB : globule de poly- β -hydroxybutyrate; V : système des vésicules périphériques d'un bactéroïde; rib : groupes de ribosomes (sans doute des polysomes) dans la partie cytoplasmique des bactéroïdes.

(soumis pour publication au *J. Microscopie*, 1975)

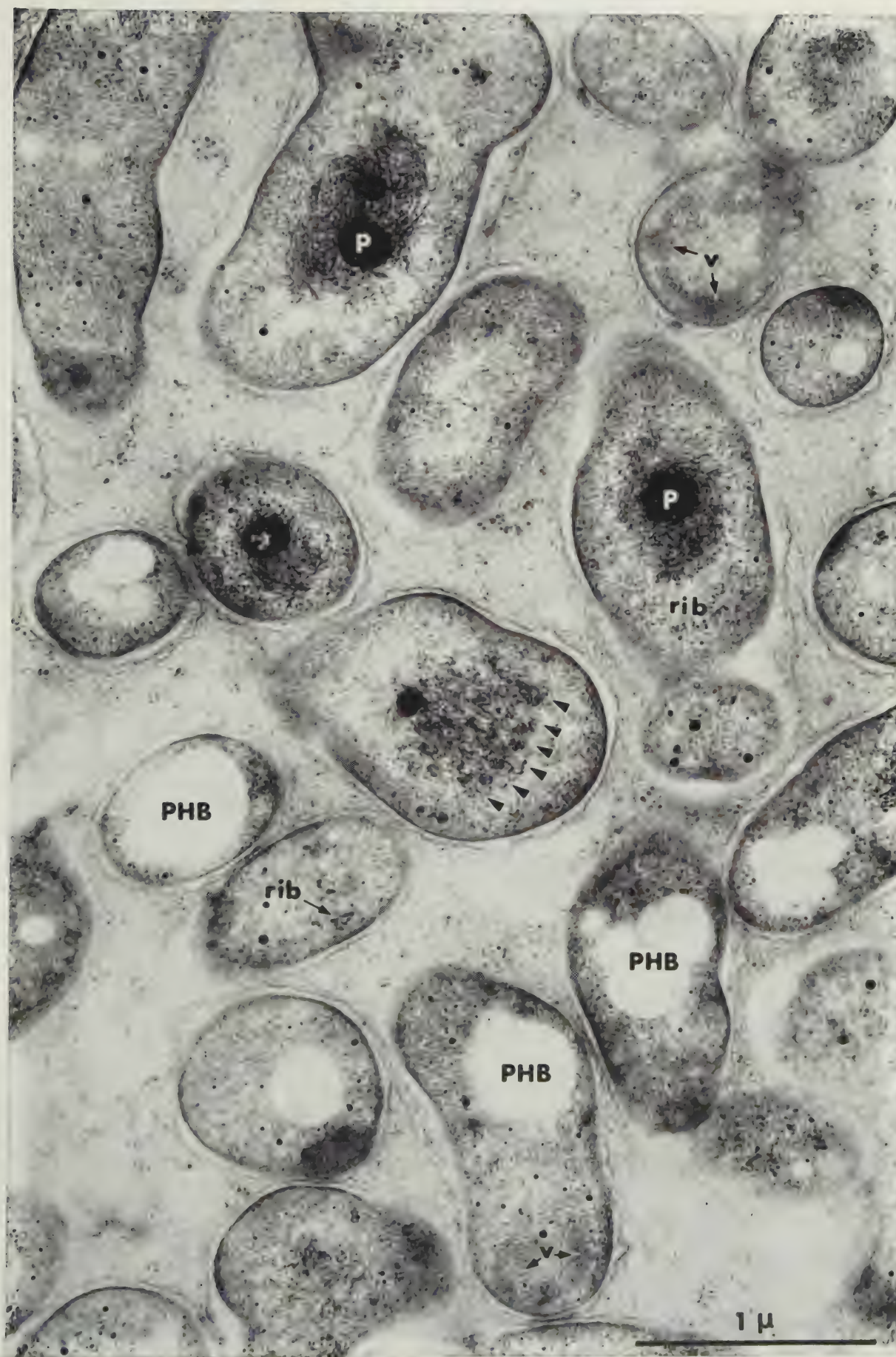


Planche 35 NUCLEOIDES DES BACTEROIDES DES NODULES DE GENET COMPARES AVEC DES
CHROMOSOMES DE PERIDINIENS

Comme dans les deux planches précédentes, les pointes de flèches désignent des fibres vues de profil, c'est-à-dire celles qui sont parallèles au plan de coupe. Leur espacement régulier souligne la périodicité régulière des deux objets biologiques comparés dans cette planche : en haut (fig. a, b et c), les nucléoïdes des bactéroïdes du genêt; en bas, les chromosomes permanents des noyaux des Péridiniens (ou Dinoflagellés) symbiotiques de l'anémone de mer *Anemonia sulcata* (voir aussi les planches 88 et 89).

Dans ces nucléoïdes et dans ces chromosomes on distingue une alternance de bandes ponctuées et fibreuses. Parfois les fibres semblent former des arceaux emboîtés. Noter de plus, dans les figures a, b, et surtout en c, les fibres qui sont situées à la périphérie des nucléoïdes et qui disparaissent progressivement dans la partie "cytoplasmique" des bactéroïdes.

rib : ribosomes; h : leghémoglobine présumée, entre la membrane enveloppe et le bactéroïde; pl : plaste du Péridinien.

L'interprétation physique et physiologique de ces structures sera discutée plus loin dans le texte, au moyen d'une théorie faisant appel à la notion de cristal-liquide.

(soumis pour publication au *J. Microscopie*, 1975)

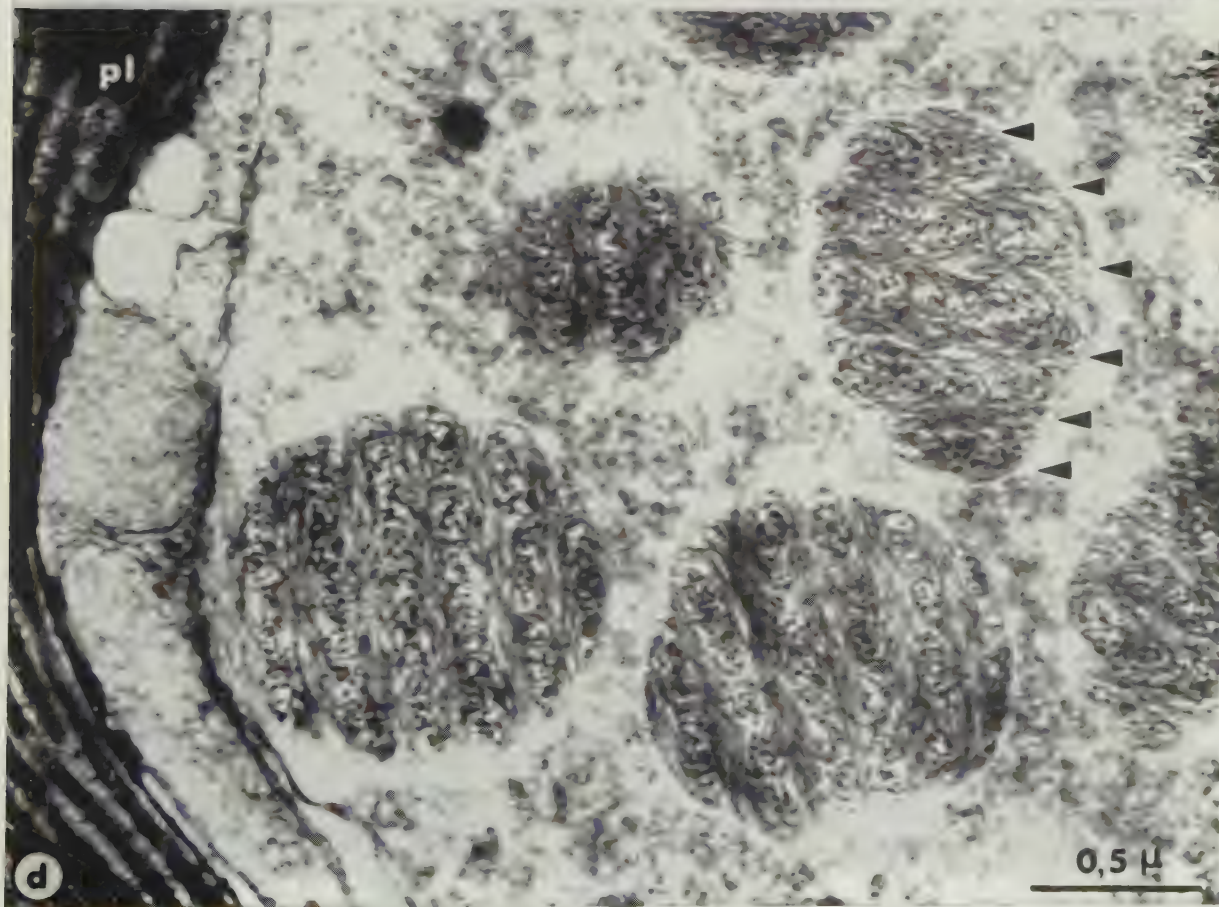
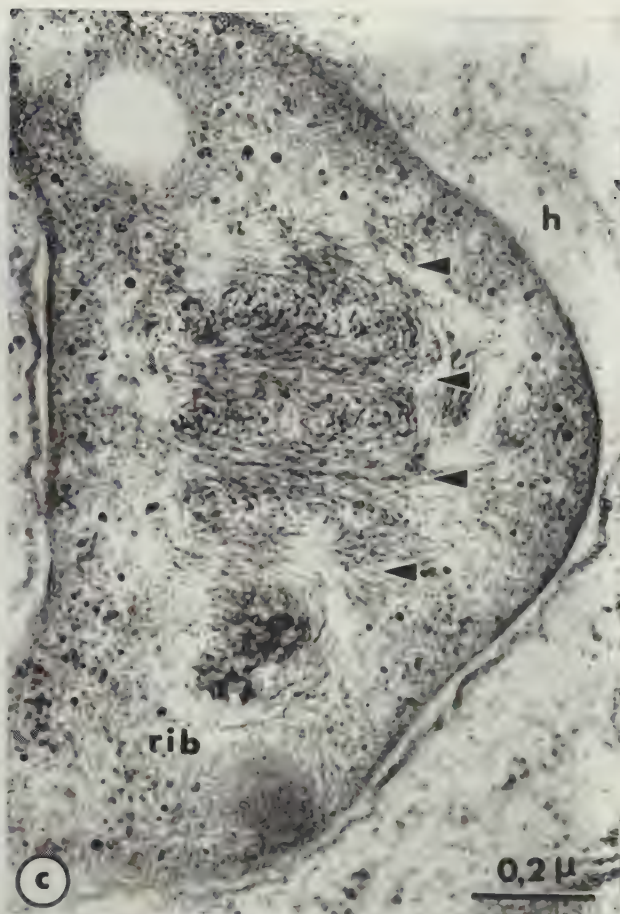
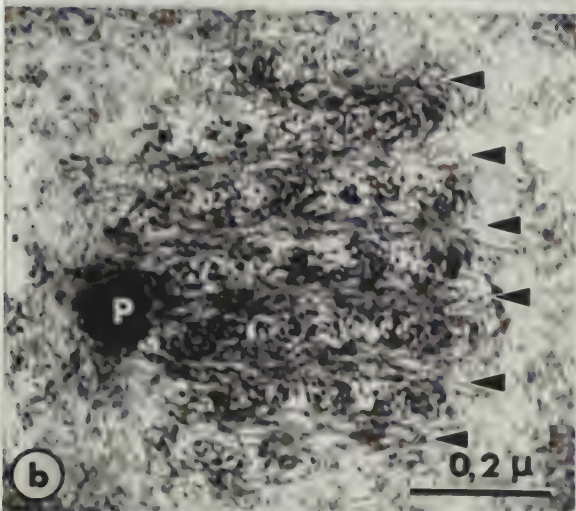
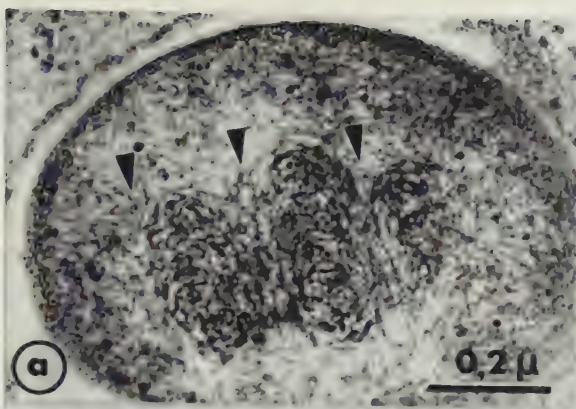


Fig. a - Bactéroïdes dans une cellule du tissu rouge (zone III) d'un nodule d'*Ulex europaeus* L. en provenance du campus de Beaulieu (Rennes).

Fig. b - Bactéroïdes dans une cellule du tissu rouge (zone III) d'un nodule de *Spartium junceum* L. en provenance du campus de Beaulieu (Rennes).

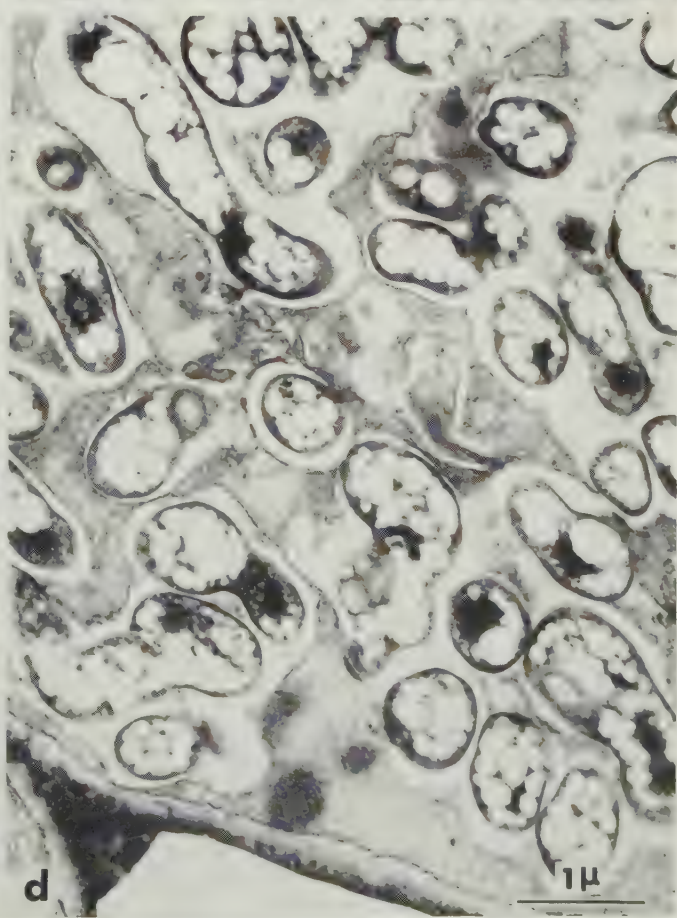
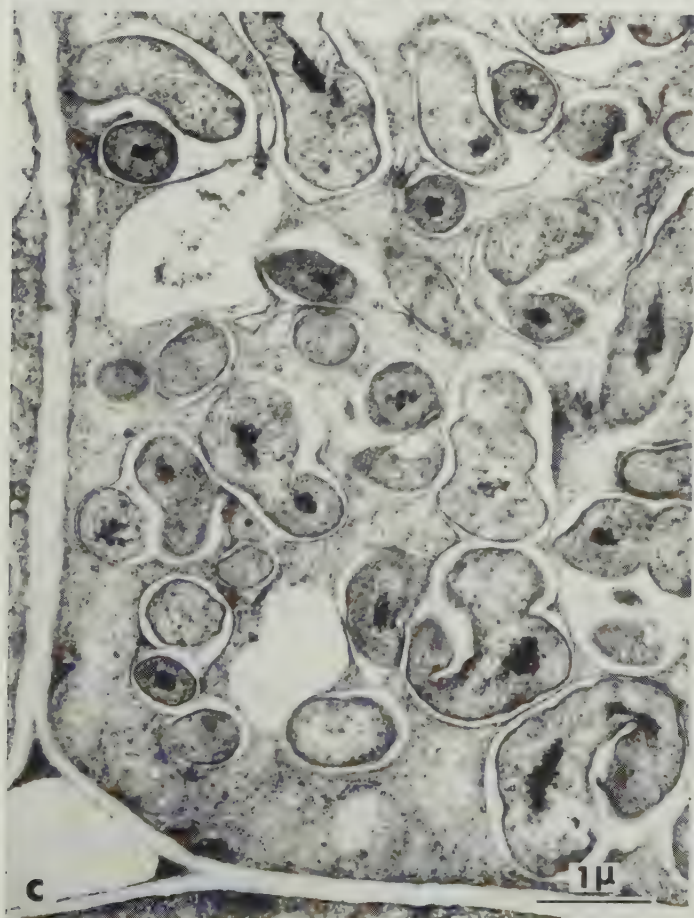
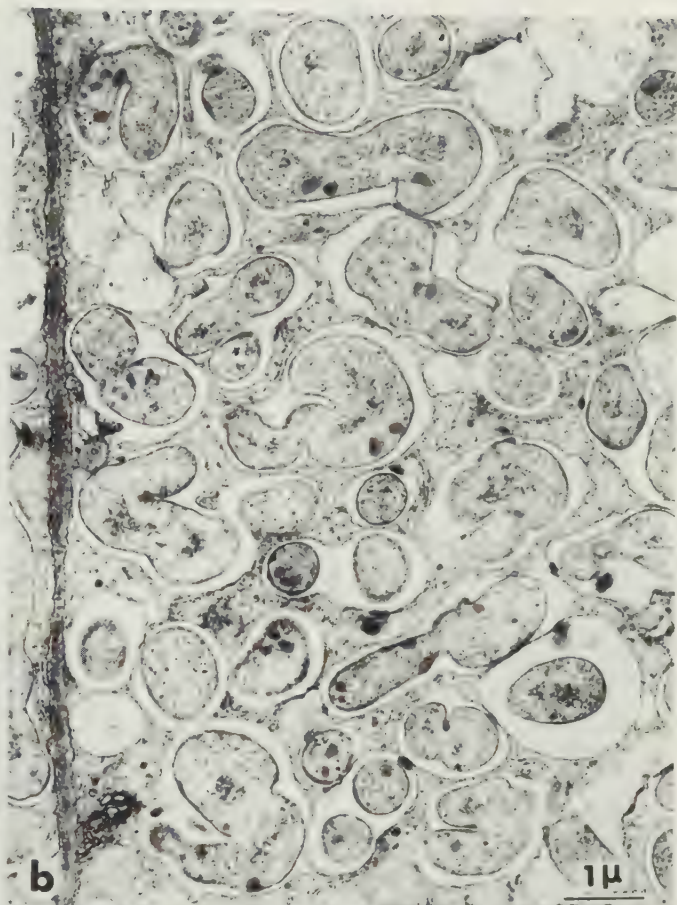
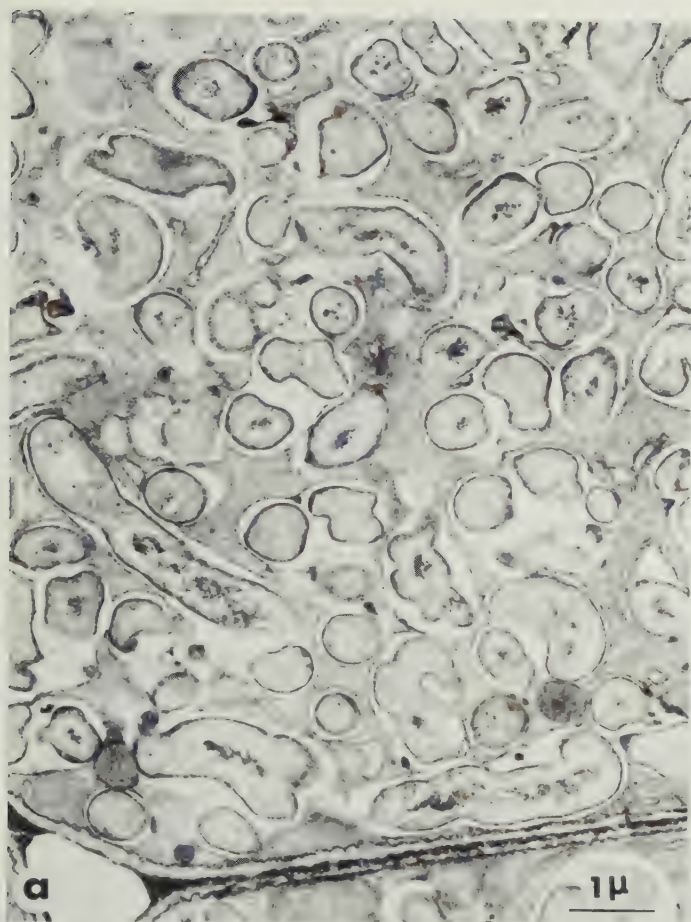
Fig. c - Bactéroïdes dans une cellule du tissu rouge (zone III) d'un nodule de *Genista anglica* L. en provenance d'une tourbière de la Forêt de Paimpont (Ille et Vilaine).

Fig. d : Bactéroïdes dans une cellule du tissu rouge (zone III) d'un nodule de *Cytisus* sp. cultivé en serre.

Dangeard, en 1926, avait proposé d'appeler *Rhizobium torulosum* le *Rhizobium* qui intervient dans la formation des nodules des ajoncs et des genêts (légumineuses appartenant à la famille des *Genistae*). Il s'appuyait sur le fait que les bactéroïdes formés dans les nodules de ces espèces, avaient une morphologie semblable. Ceux-ci sont courbés sur eux-mêmes; leurs extrémités en se rapprochant leur donnent parfois la forme d'un tore, d'où le nom de l'espèce.

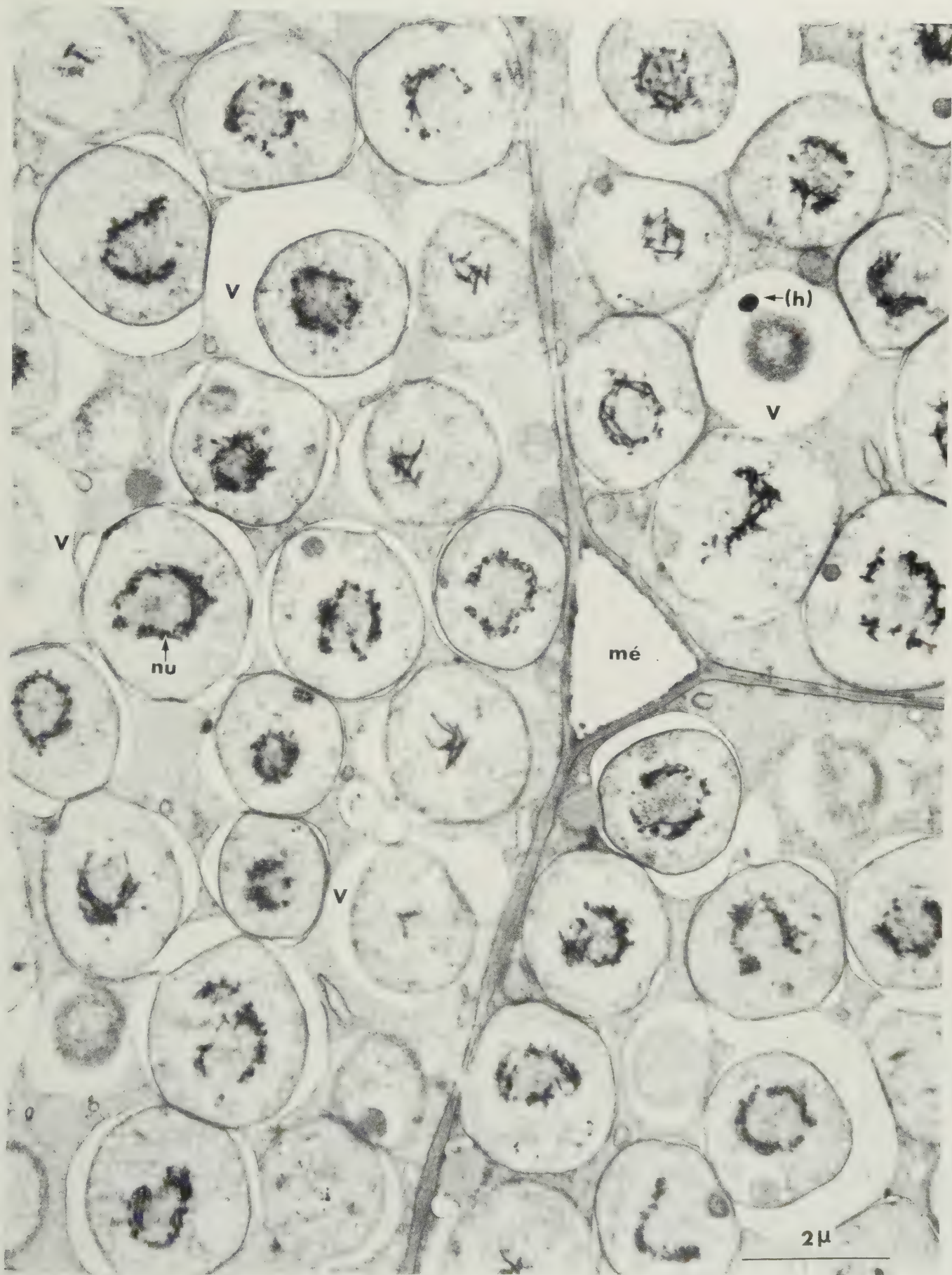
En 1932, dans leur mémoire célèbre, Fred, Baldwin et Mc Coy n'ont pas retenu cette espèce en arguant du fait que Dangeard n'aurait pas respecté la règle d'antériorité applicable en matière de nomenclature. Nous discuterons ce problème, mais il apparaît évident que les nodules d'*Ulex*, *Sarothamnus*, *Genista* et *Spartium* (le cas de *Cytisus* est plus discutable) contiennent des bactéroïdes qui se ressemblent étonnamment par leur taille et leur forme.

(originaux non publiés)



Dans ces cellules du tissu rouge (zone III) d'un nodule d'arachide (*Arachis hypogea* L.) cultivée en serre, les bactéroïdes sont sphériques. Leur nucléoïde (nu), dense aux électrons, a la forme d'une cupule dont le centre est en contact avec le reste du "cytoplasme" bactérien. Dans la vacuole où se trouve enclavé chaque bactéroïde, une condensation de substance dense aux électrons représente peut-être la leghémoglobine (h) . mé : méat; V : vacuole.

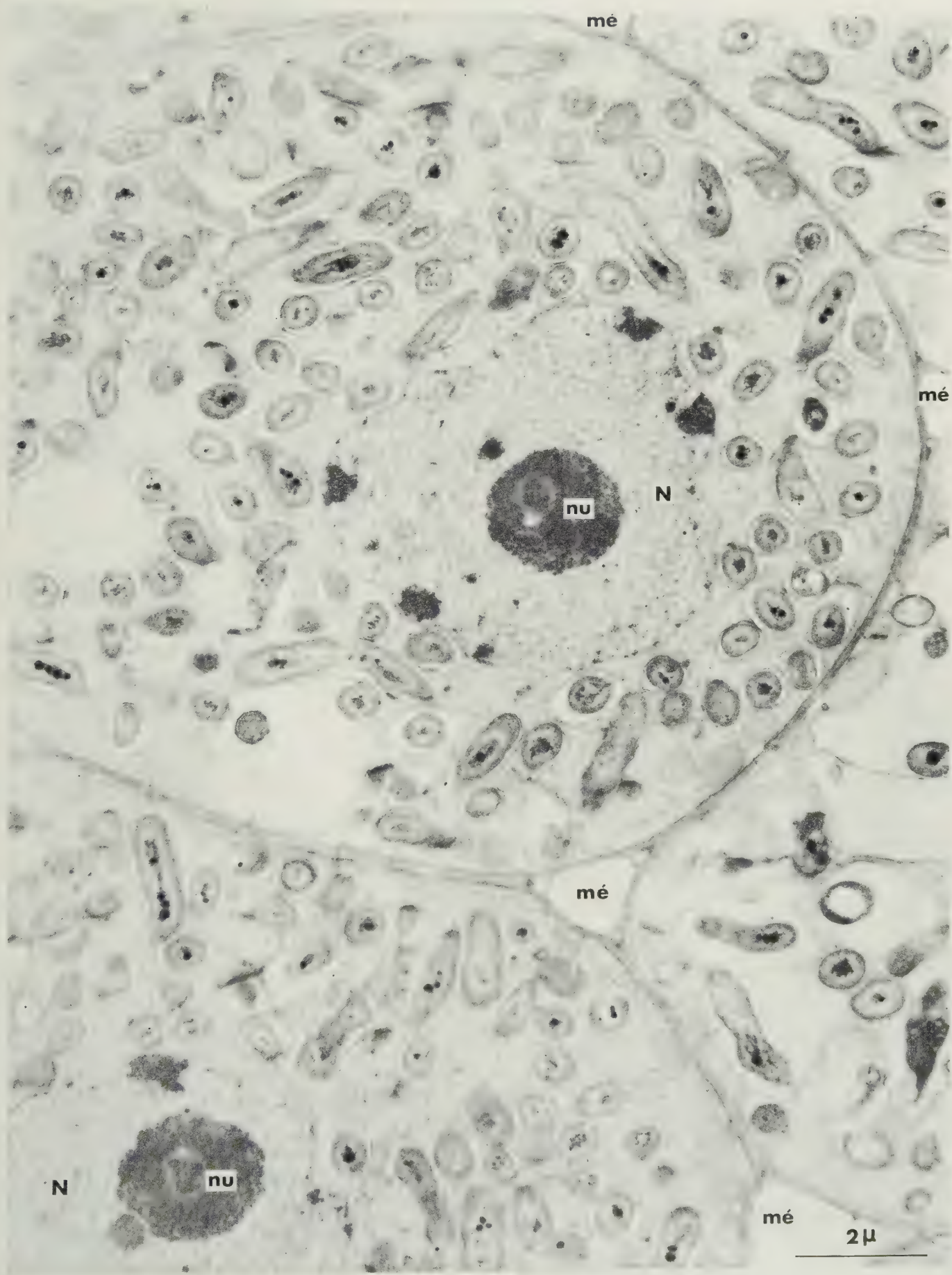
(original non publié)



Dans ces cellules du tissu rouge (zone III) d'un nodule de lupin bleu (*Lupinus angustifolius* L.) cultivé en pleine terre à Trogolot (Finistère), les *Rhizobium*, vraisemblablement *Rhizobium lupini* Schroeter, ont une forme filamenteuse et montrent un nucléoïde dense aux électrons, et accompagné de globules de polyphosphates. Au niveau où a été faite la coupe les *Rhizobium* sont encore isolés dans leur vacuole. Dans des cellules plus âgées de la zone III, ces vacuoles pourront fusionner, regroupant ainsi les bactéries qu'elles contiennent.

mé : méat; N : noyau; nu : nucléole.

(original non publié)



- Fig. a - Bactéries différenciées du tissu rouge (zone III) d'un nodule de *Lotus uliginosus* Schk provenant d'un bas-fond humide du campus de Beaulieu (Rennes). Noter l'abondance des gouttelettes de poly- β -hydroxybutyrate et la présence de globules polaires osmiophiles dans les bactéroïdes. Le nucléoïde (nu) est également dense aux électrons.
- Fig. b - Bactéries différenciées du tissu rouge, en début de sénescence, (intermédiaire entre zone III et zone IV), d'un nodule de *Cajanus cajan* cultivé en serre à l'INRA de Dijon. La sénescence est marquée par le gonflement des vacuoles à bactéries. Ces dernières montrent des globules de polyphosphates au niveau de leur nucléoïde.
- Fig. c - Bactéries différenciées du tissu rouge (zone III) d'un nodule de *Centrosema pubescens* cultivé en serre à l'INRA de Dijon. Dans ces bactéries le nucléoïde fibreux est très dense; il contient des globules de polyphosphates entièrement opaques aux électrons (voir aussi Planche 40, fig. e).
- Fig. d - Bactéries différenciées du tissu rouge (zone III) d'un nodule de soja (*Glycine max*), cultivé en serre et inoculé par *Rhizobium japonicum*. Les bactéries filamenteuses sont coupées longitudinalement (1), transversalement (2) ou obliquement (3). Elles sont riches en gouttelettes de poly- β -hydroxybutyrate, et possèdent un nucléoïde fibreux dense aux électrons, contenant parfois des globules de polyphosphates. Les bactéries sont groupées à plusieurs au sein d'une même vacuole. h : leg-hémoglobine présumée.

(originaux non publiés)

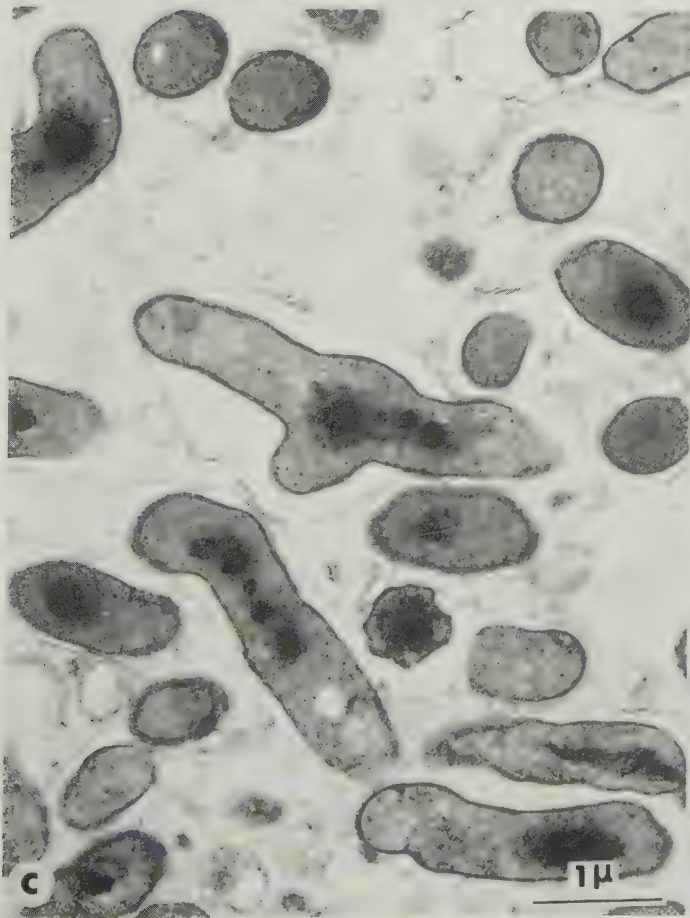
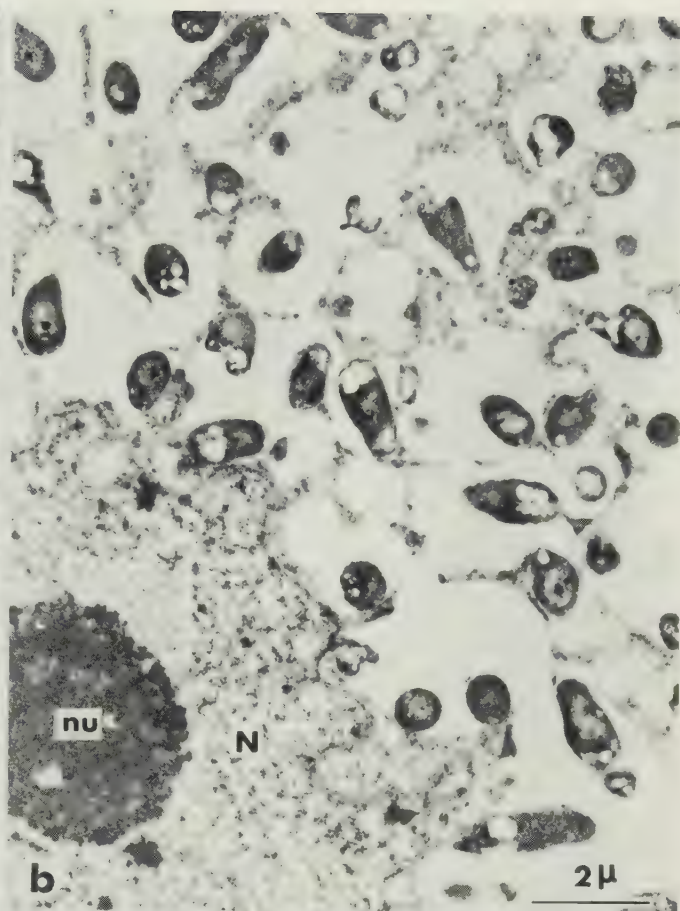
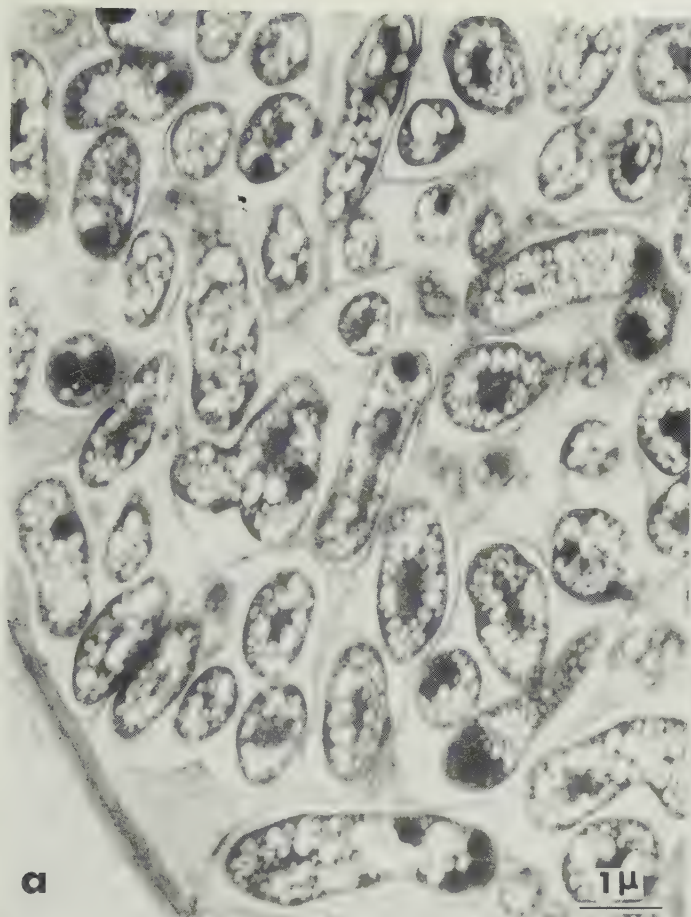
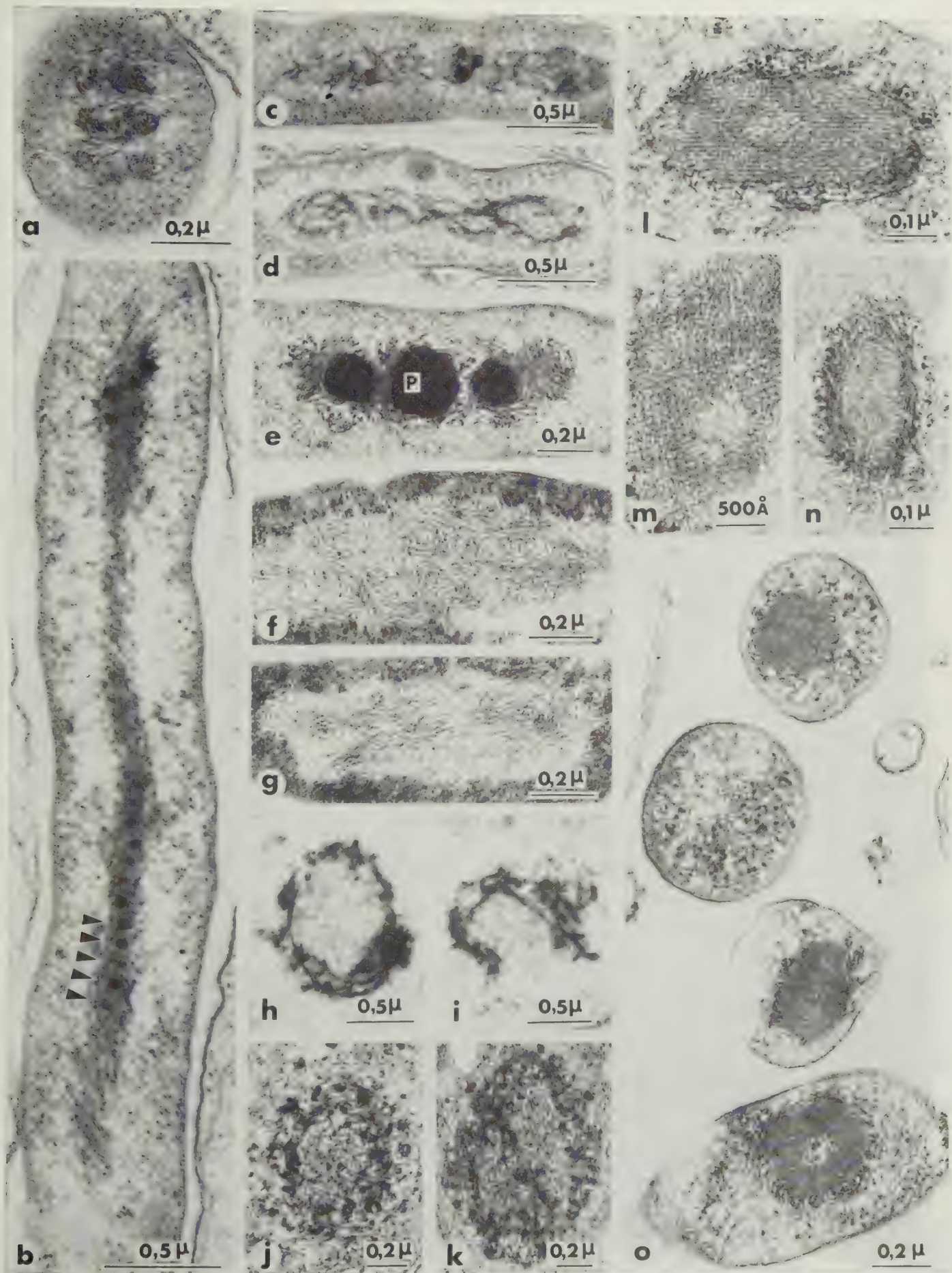


Planche 40 PARTICULARITES DES NUCLEOIDES CONDENSES DES *RHIZOBIUM* A CROISSANCE LENTE

- Fig. a, b, c - Nucléoïdes de bactéries différenciées de nodules de *Lupinus angustifolius* à *Rhizobium lupini*.
- Fig. a - Le nucléoïde, fibreux et dense aux électrons, a la même structure en contre-plaqué cholestérique qu'un chromosome de Périodinien (voir Planche 35).
- Fig. b - Une périodicité interne du nucléoïde semble être marquée par les gouttelettes de polyphosphates disposées régulièrement. Il s'agit peut-être du pas cholestérique de cette pseudomorphose.
- Fig. c - Ici le nucléoïde ne montre aucune périodicité mais les fibres de DNA tendent à s'agréger autour de directions préférentielles.
- Fig. d - Dans cette coupe de bactéroïde d'un nodule de genêt (*Sarothamnus scoparius* à *Rhizobium torulosum* Dangeard, les agrégats de fibres de DNA sont bien visibles et ménagent entre eux des espaces clairs.
- Fig. e - Globules de polyphosphates bien visibles dans le nucléoïde d'une bactérie différenciée d'un nodule de *Centrosema pubescens*.
- Fig. f, g - Des broyats de nodules d'*Albizzia lophanta* ont été fixés par la méthode de Ryter et Kellenberger (1958). Le nucléoïde des bactéries différenciées montre une structure fibreuse où l'on distingue une périodicité caractéristique des cristaux-liquides (ou pseudomorphoses) de type cholestérique. Les nodules ont été broyés parce que le fixateur doit être en contact avec la paroi bactérienne pour donner de bons résultats.
- Fig. h, i, j, k - Nucléoïdes en cupule simple (h,i,j) ou double (k) des bactéroïdes des nodules d'*Arachis hypogaea*. L'intérieur de ces cupules est en continuité avec le "cytoplasme" des bactéroïdes. Ici encore les fibres tendent à s'agréger autour de directions préférentielles créant ainsi des zones de moindre densité au sein du nucléoïde. Dans ces agrégats, qui sont peut-être dus à des artefacts de fixation, les fibres sont vraisemblablement orientées autour d'une disinclinaison λ^{2+} du même type que celle qui apparaît après certains traitements dans le nucléoïde mitochondrial (DNA kinétoplastique des Hémoflagellés; Delain et Riou, 1969; Bouligand, 1975).
- Fig. l, m, o - Nucléoïdes montrant une partie en réseau paracristallin, dans les bactéries différenciées des nodules d'une *Mimosoïdae* (*Albizzia lophanta*). Ces nucléoïdes semblent encore être creux, leur partie centrale ayant la même densité que le "cytoplasme" bactérien. Autour de ce creux central s'observe une zone montrant un réseau de points (Fig. m) ou des bandes parallèles (Fig. l). Autour de cette zone qui n'est pas limitée par des faces planes, s'observent des fibres plus ou moins coagulées de DNA du nucléoïde. La partie paracristalline est-elle du DNA cristallisé? Il sera très intéressant de tester expérimentalement cette hypothèse.
- Fig. n - Nucléoïde montrant également deux parties, chez une bactérie différenciée d'un nodule d'*Ornithopus perpusillus* à *Rhizobium lupini*.
- Signalons que Craig et coll. (1973), ont également observé une inclusion cristalline dans le nucléoïde des bactéries différenciées de deux souches de *Rhizobium* à croissance lente.

(originaux non publiés)

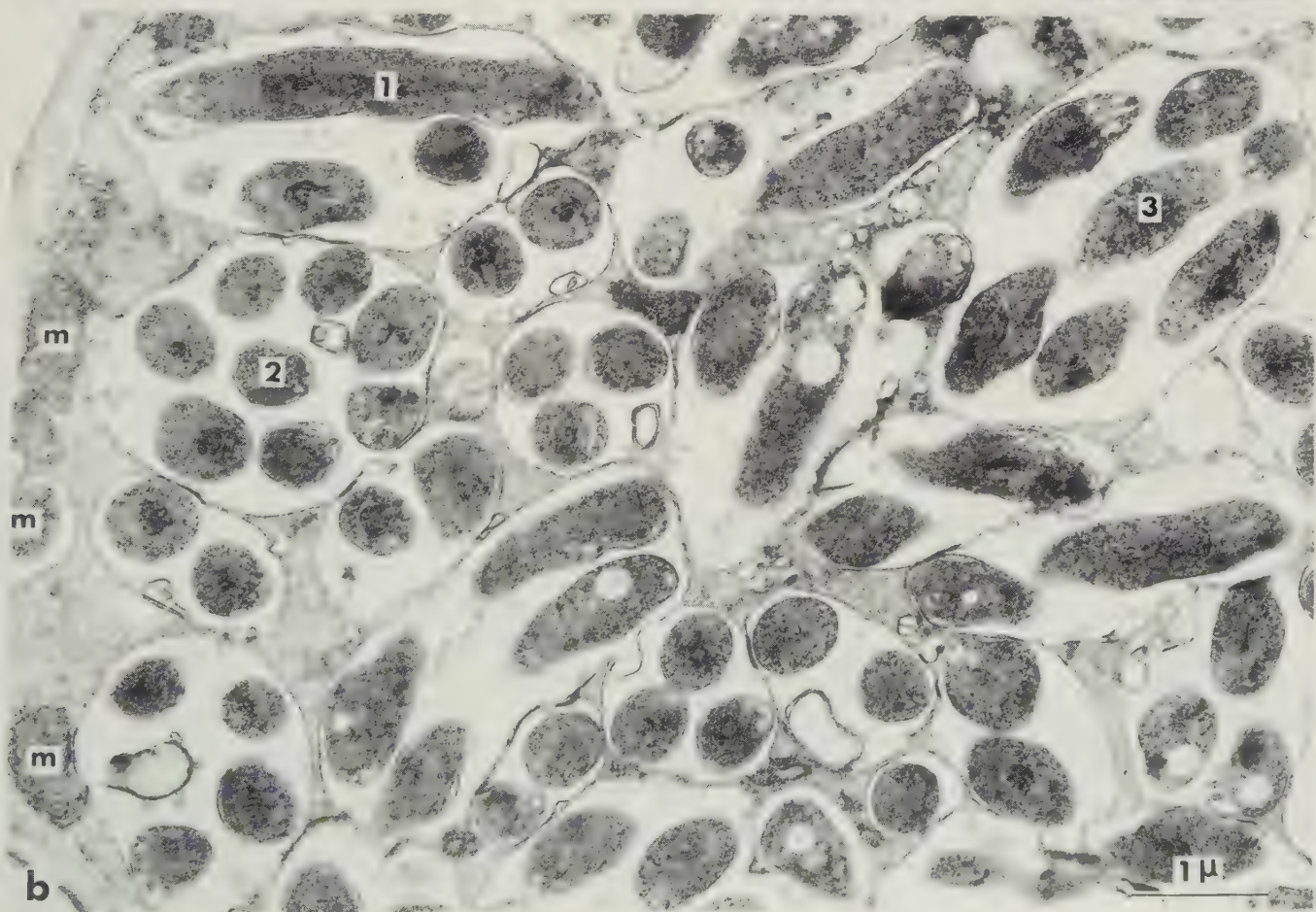
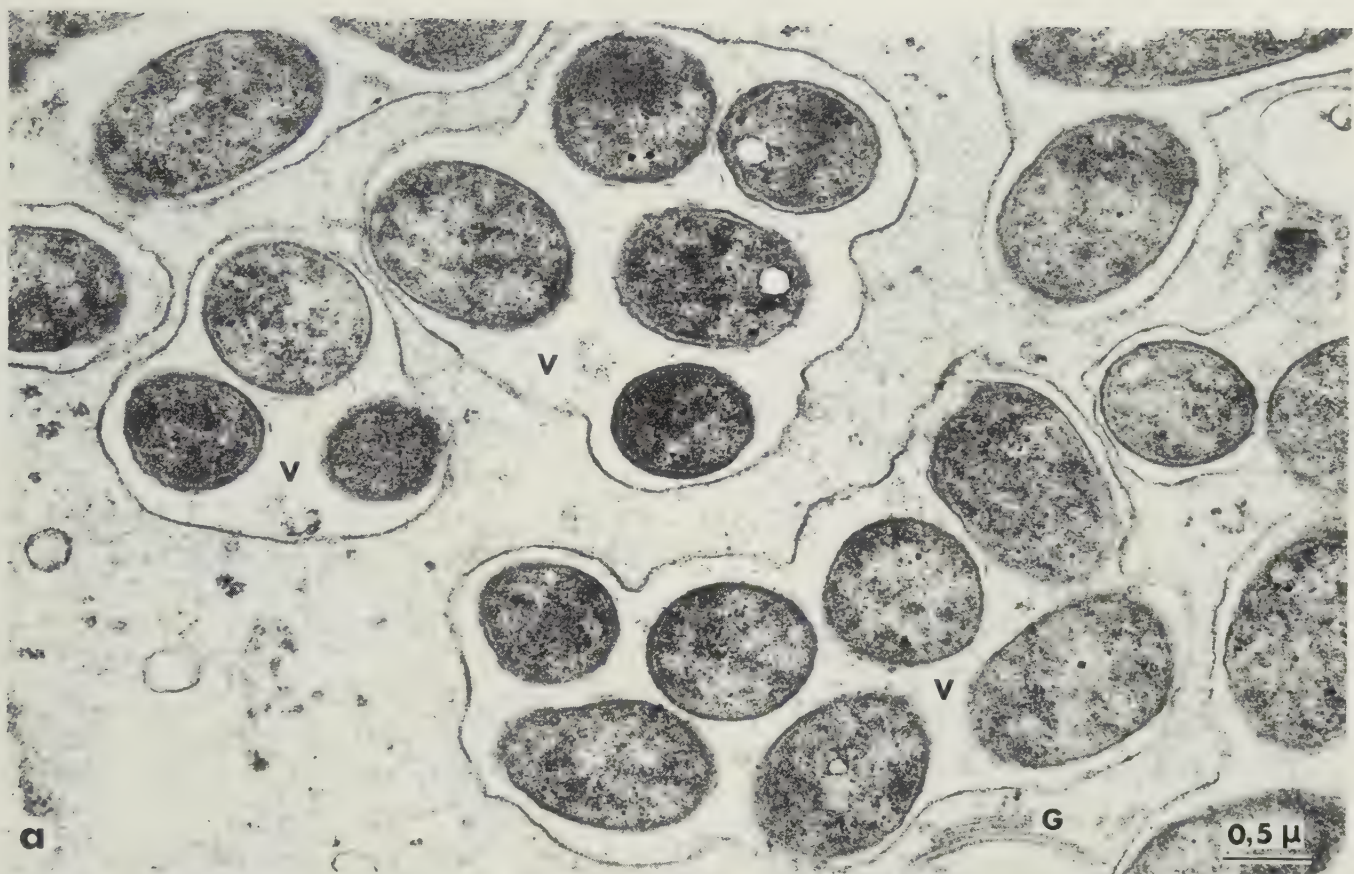


Dans ces cas de *Rhizobium* demeurant en bâtonnets dans la zone rouge des nodules, les vacuoles (v) contiennent très généralement plusieurs bactéries qui ont tendance à se disposer parallèlement les unes aux autres avec cependant une légère torsion de chaque bactérie par rapport à ses voisines. Comme chaque groupe est disposé au hasard dans la cellule-hôte ces *Rhizobium* en bâtonnets apparaissent en coupe longitudinale (1), transversale (2) ou oblique (3).

Bien que beaucoup plus fréquente dans les nodules formés par des *Rhizobium* à croissance lente (et corrélativement à nucléoïde dense comme c'est le cas dans la fig. b correspondant à *Rhizobium lupini* Schroeter dans *Ornithopus perpusillus* L.), cette disposition se rencontre aussi dans les nodules formés par des *Rhizobium* à croissance rapide (et corrélativement à nucléoïde clair et dispersé comme dans la fig. a, correspondant au *Rhizobium* de *Robinia pseudo-acacia* L.). On en déduit que ce sont les caractéristiques physiques liées à la forme en bâtonnet des bactéries qui jouent un rôle important dans le regroupement et non pas l'appartenance à telle ou telle espèce de *Rhizobium* comme cela avait été suggéré par Kidby et Goodchild (1966). Ajoutons que le regroupement est d'autant plus important que la cellule-hôte est âgée.

G : dictyosome ; m : mitochondrie.

(originaux non publiés)



Dans cette planche et la suivante, les images sont obtenues par contraste positif sans ombrage, en microscopie électronique à transmission. Une goutte de liquide résultant de l'écrasement d'un fragment de tissu rouge de nodule, est mise en contact avec une grille préalablement collodionnée. Les bactéroïdes s'adsorbent sur ce film transparent de collodion. On laisse la grille sécher, puis on l'observe. Cette technique montre la forme des bactéroïdes en nombre significatif et elle a l'avantage sur la microscopie photonique de permettre l'observation, par transparence, de certaines structures internes.

Grossissement x 5000 ($1\mu = 5\text{ mm}$)

Fig. a - Bactéroïdes ovoïdes ou piriformes de nodules de *Trifolium repens* (*Rhizobium trifolii* présumé) x 5 000.

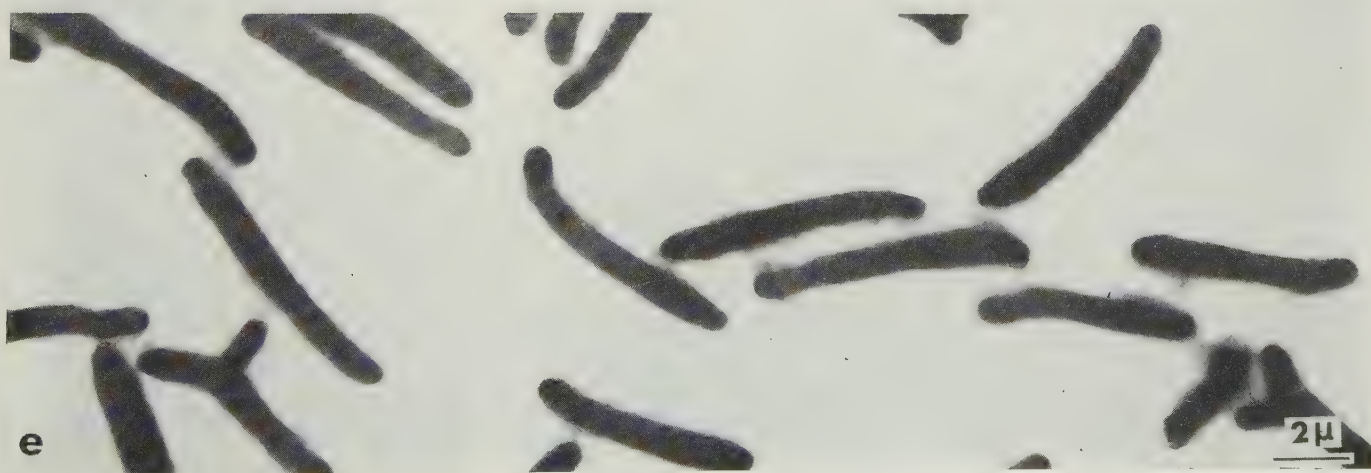
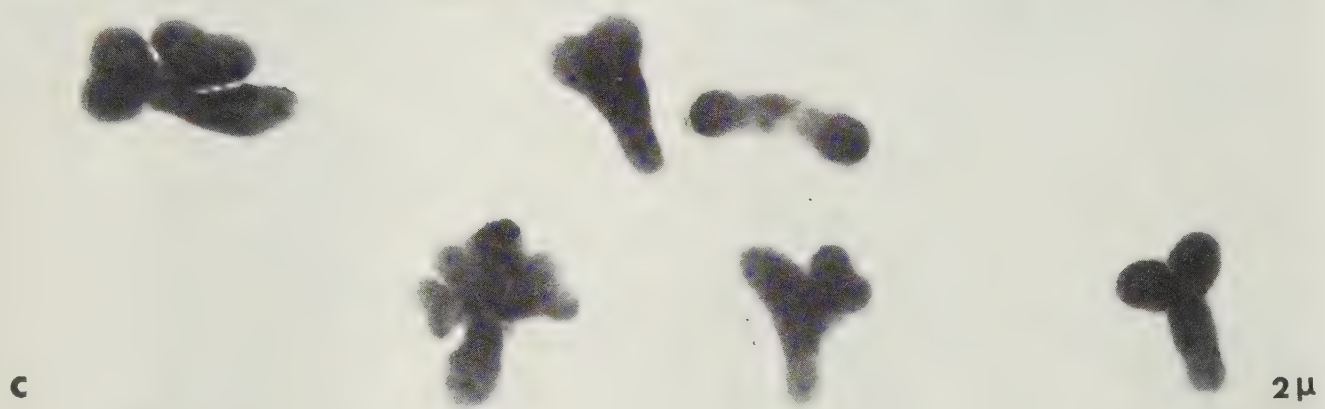
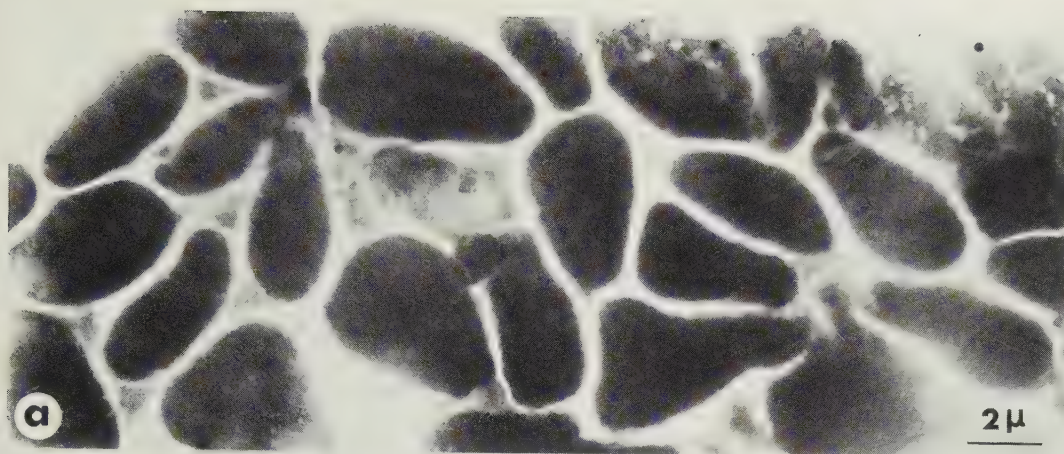
Fig. b - Dans ce bactéroïde piriforme les points clairs correspondent sans doute aux "buissons" de vésicules internes dérivés de la membrane plasmique (*Rhizobium trifolii* présumé) x 8 000.

Fig. c - Bactéroïdes à ramifications dichotomes d'un nodule de *Pisum sativum* (*Rhizobium leguminosarum* présumé) x 5 000.

Fig. d - Bactéroïdes à ramifications dichotomes (mais surtout en Y) d'un nodule de *Vicia sativa* (*Rhizobium leguminosarum* présumé) x 5 000.

Fig. e - Bactéroïdes allongés en massue, montrant parfois une branche latérale d'un nodule de *Galega officinalis*. Il s'agit peut-être de *Rhizobium meliloti*. x 5 000.

(originaux non publiés)

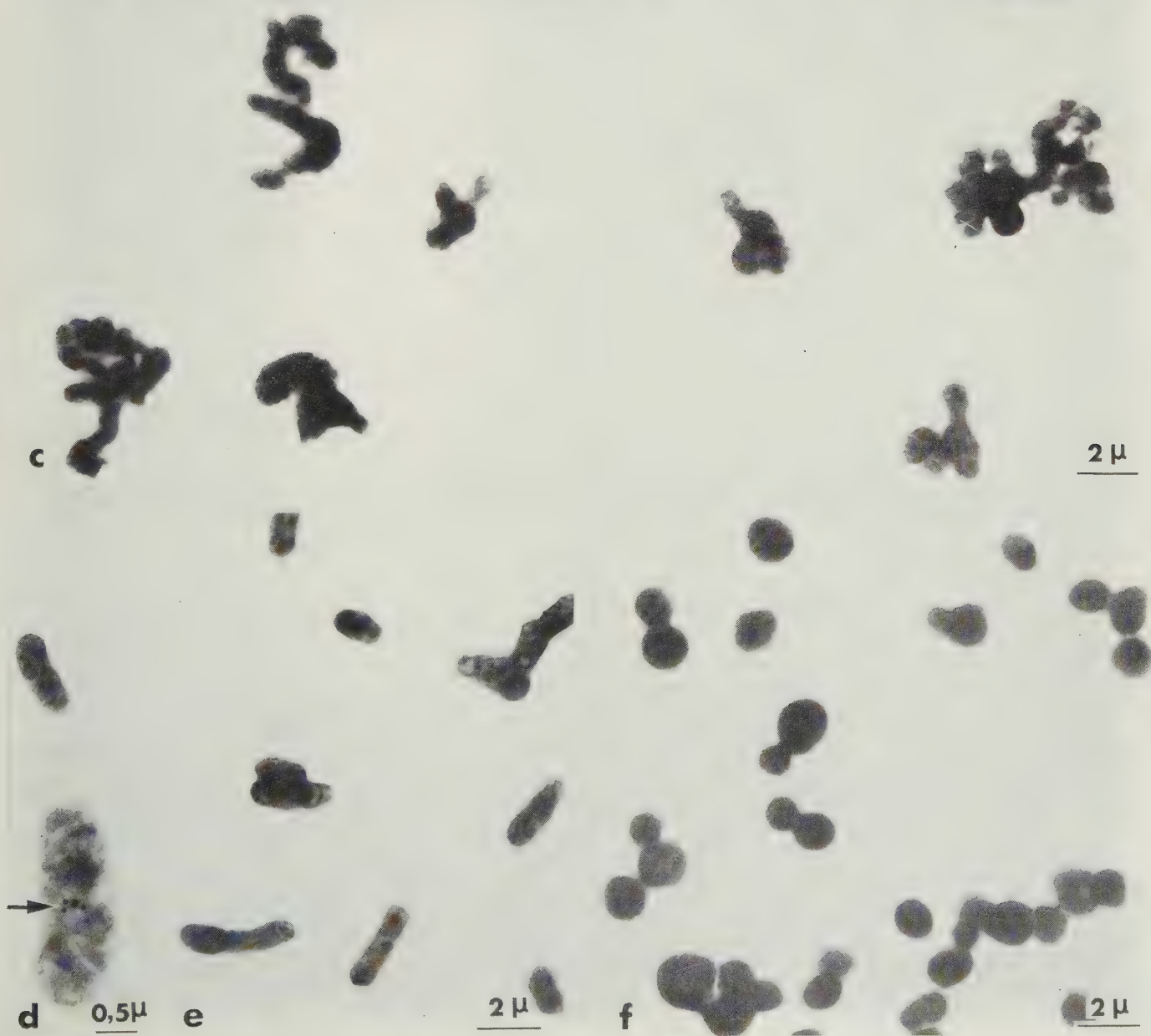
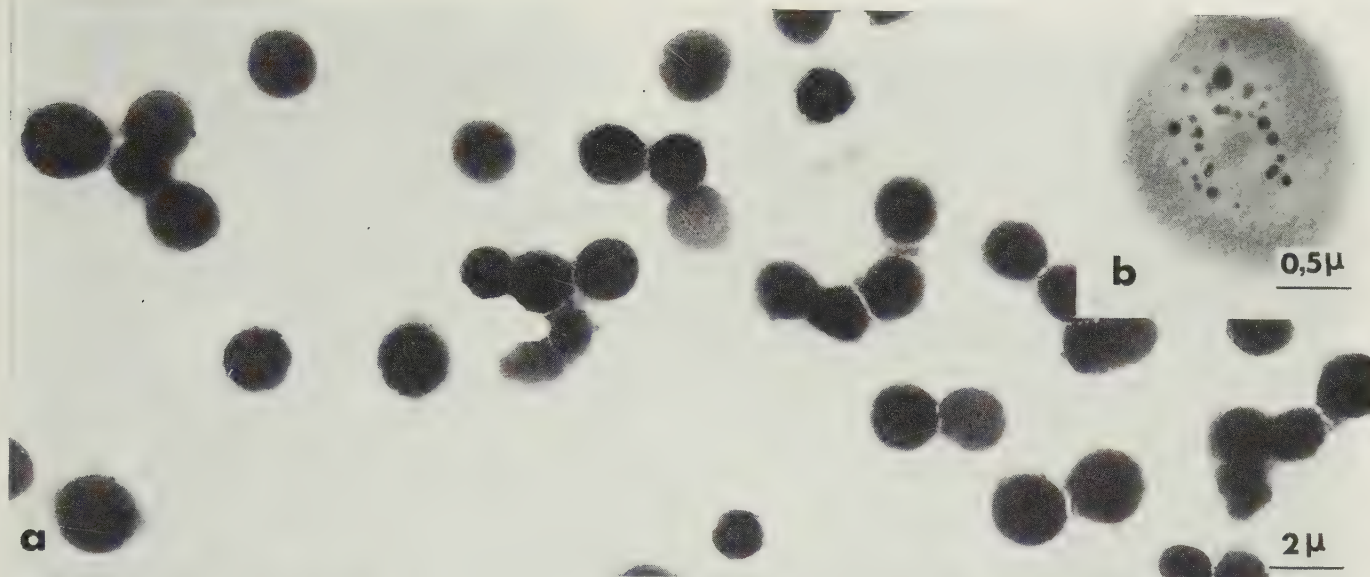


Grossissement 5000 ($1\mu = 5\text{ mm}$)

- Fig. a - Bactéroïdes sphériques d'un nodule d'*Arachis hypogea*. (x 5 000).
- Fig. b - Dans ce bactéroïde d'*Arachis hypogea*, les globules de polyphosphates apparaissent comme des points noirs au niveau d'un arc plus clair qui représente vraisemblablement le nucléoïde du bactéroïde. (x 20 000).
- Fig. c - Bactéroïdes filamenteux recroquevillés sur eux-mêmes, d'un nodule de genêt (*Sarothamnus scoparius*). (x 5 000).
- Fig. e - Bactéries différenciées en forme de bâtonnets d'un nodule de *Lotus uliginosus*. (x 5 000).
- Fig. d - Dans cette bactérie correspondant à la figure précédente, mais vue au grossissement 12 000, on distingue des globules de polyphosphates.
- Fig. f - Bactéroïdes oblongs ou formés de deux ou trois éléments sphéruleux d'un nodule de *Lotus corniculatus*. (x 5 000).

Bilan de ces deux planches de résultats : Cette méthode rapide permet d'attribuer les bactéroïdes d'un nodule à tel ou tel groupe d'inoculation. De plus, s'il y a des globules de polyphosphates, on peut présumer qu'il s'agit d'un *Rhizobium* à croissance lente (voir discussion).

(originaux non publiés)



CARACTERISATION DES GRANULATIONS POLYGLUCOSIDIQUES
des bactéroïdes par la méthode de Thiéry à l'acide periodique-thiocarbohy-
drazide-protéinate d'argent

Des coupes fines recueillies en comètes de plastique sont d'abord oxydées par l'acide periodique à 1% pendant 30 mn, puis traitées par la thiocarbohydra-
zide pendant 48 heures et enfin par le protéinate d'argent pendant 30 mn.

La réaction est surtout positive au niveau des granulations denses des bactéroïdes. Il s'agirait vraisemblablement d' α -glycogène (Shively, 1974). Un dépôt d'argent se produit également sur la paroi et le plasmalemma des cellules-hôtes, sur les membranes des plastes et sur les membranes enveloppes autour des bactéroïdes, ce qui montre leur parenté avec le plasmalemma.

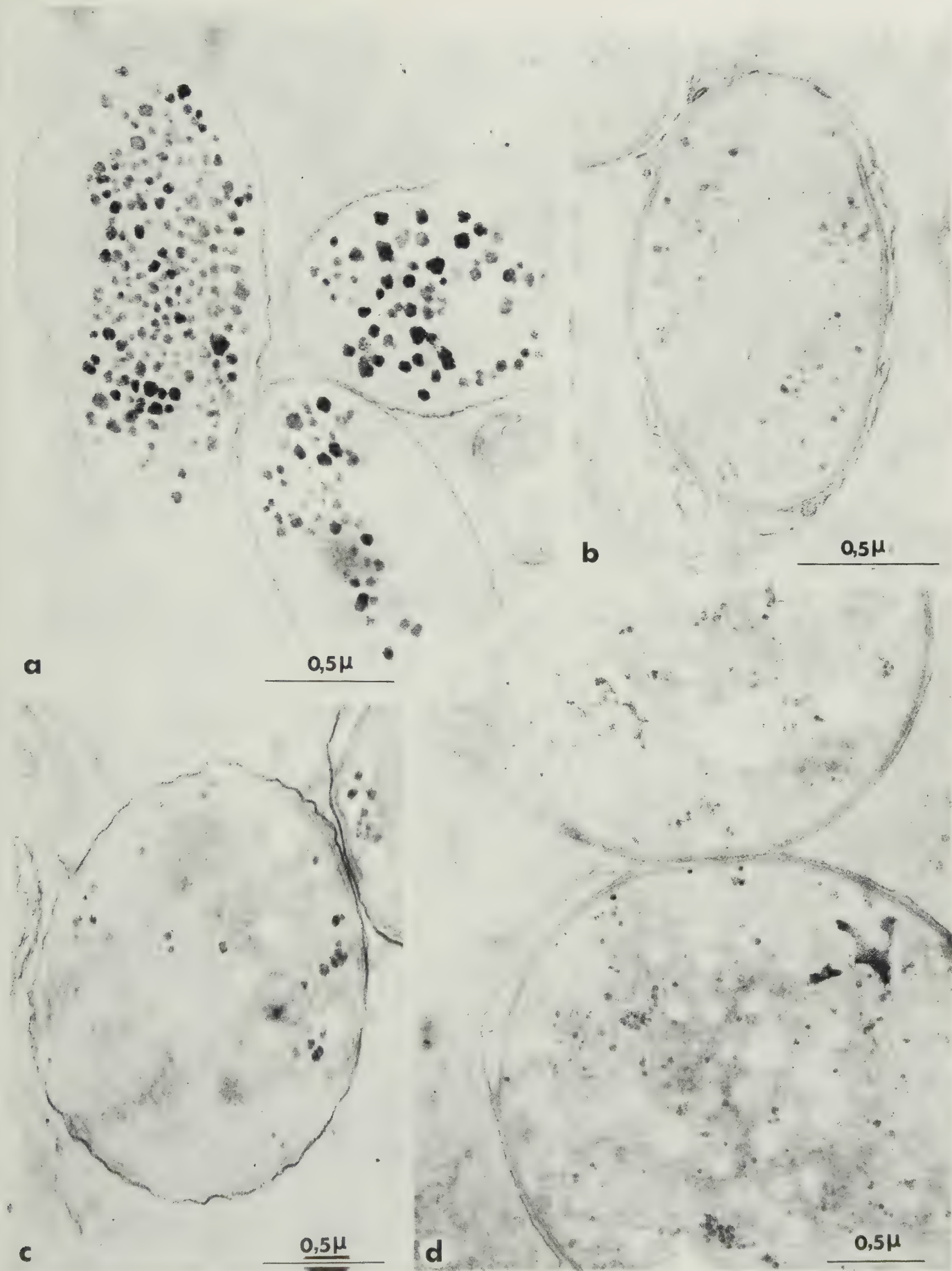
Fig. a - Bactéroïdes d'un nodule inefficent d'un trèfle phyllodié dont le phloème contenait des mycoplasmes. (voir planche 53).

Fig. b - Bactéroïde d'un nodule de *Lotus corniculatus*.

Fig. c - Bactéroïde d'un nodule d'*Arachis hypogea*.

Fig. d - Bactéroïde d'un nodule d'*Astragalus bayonensis*.

(originaux non publiés)



DETECTION CYTOCHIMIQUE DES HEMOPROTEINES par la diaminobenzidine (DAB)

Dans les cinq planches qui viennent (45 à 49), nous présentons les résultats les plus significatifs obtenus par cette technique à la diaminobenzidine appliquée surtout au tissu rouge des nodules. Il s'agit de la technique initialement mise au point par Graham et Karnovsky (1965), étendue à la détection des cytochromes oxydases par Seligman et coll. (1968), puis optimisée par Novikoff (1969, 1970). D'une manière générale le protocole expérimental est le suivant : de très petites portions de nodules sont fixées au glutaraldéhyde (tampon cacodylate 0,1 M, pH 7,2, pendant 30mn au froid), rincées dans le tampon puis incubées dans la solution de 3,3'-diaminobenzidine tamponnée à pH 6, pH 8 ou pH 9 selon les conditions optimales recommandées par Novikoff. L'incubation est faite à 37° pendant 45 mn. Après rinçage, les pièces sont postfixées dans le tétroxyde d'osmium et incluses en Epon. Les coupes semi-fines et les coupes fines sont observées sans coloration.

Planche 45

DETECTION DE CYTOCHROME(S) OXYDASE(S) par incubation dans la DAB à pH 6

Le milieu d'incubation contient la 3,3'-diaminobenzidine dans un tampon acétate (pH 6 final), des ions Mn^{++} et de l'eau oxygénée à 0,1%.

La figure montre les bactéroïdes de la zone rouge d'un nodule de *Trifolium repens*. Le produit osmiophile de la réaction cytochimique s'est formé au niveau de l'espace périplasmique des bactéroïdes et dans les vésicules périphériques. Des corps granuleux (cg) sont présents au centre des bactéroïdes.

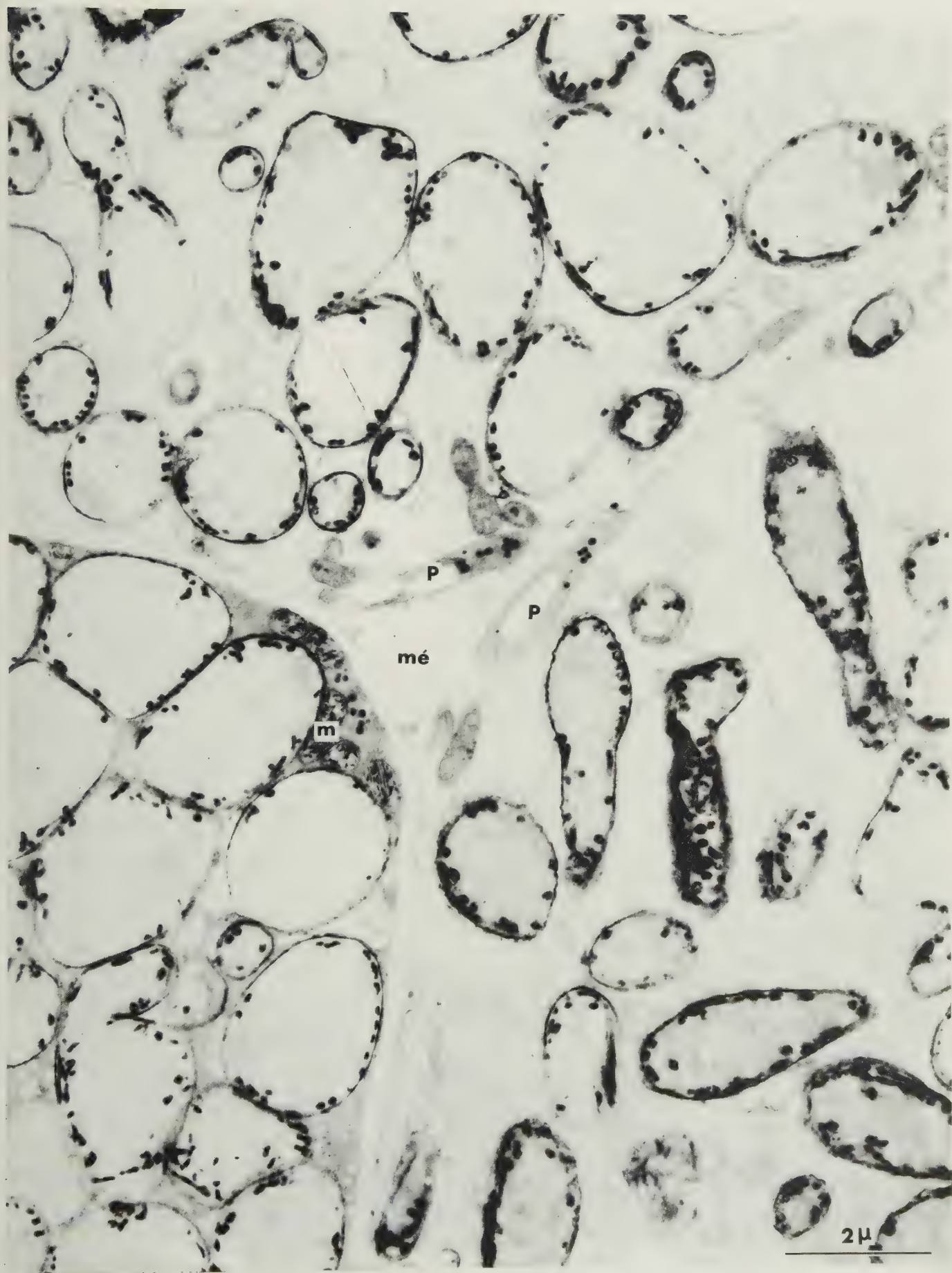
(Gourret et Fernandez-Arias, *Can. J. Microbiol.*, 20, 1169-1181, 1974)



Cellules du tissu rouge (zone III) d'un nodule de *Trifolium pratense* L. montrant les bactéroïdes en poire de *Rhizobium trifolii* dont l'espace périplasmique et les vésicules ont réagi positivement par incubation dans le milieu à la diaminobenzidine à pH 6 (même protocole expérimental que pour le nodule de *Trifolium repens* L. planche 45).

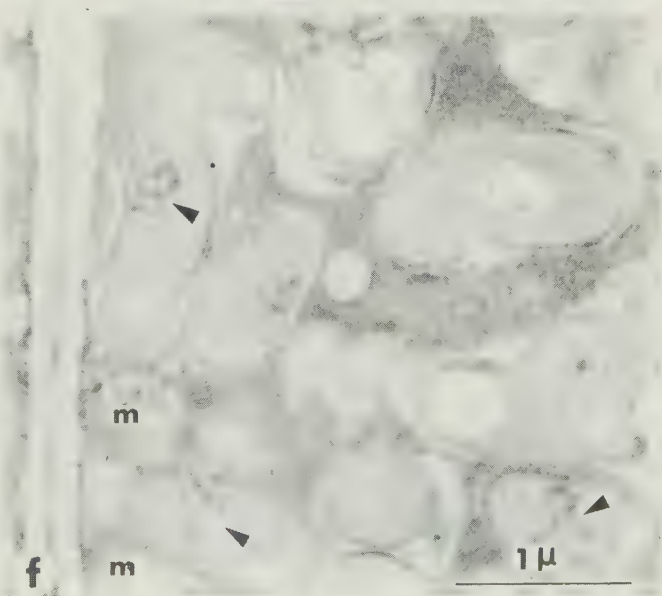
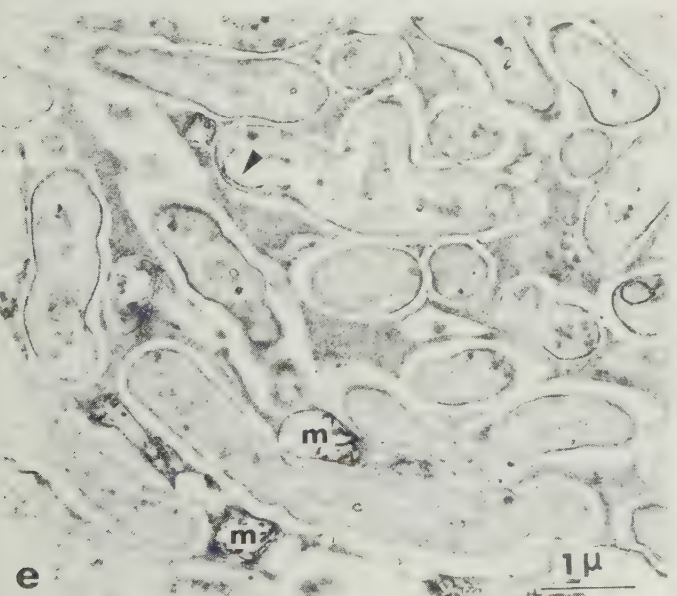
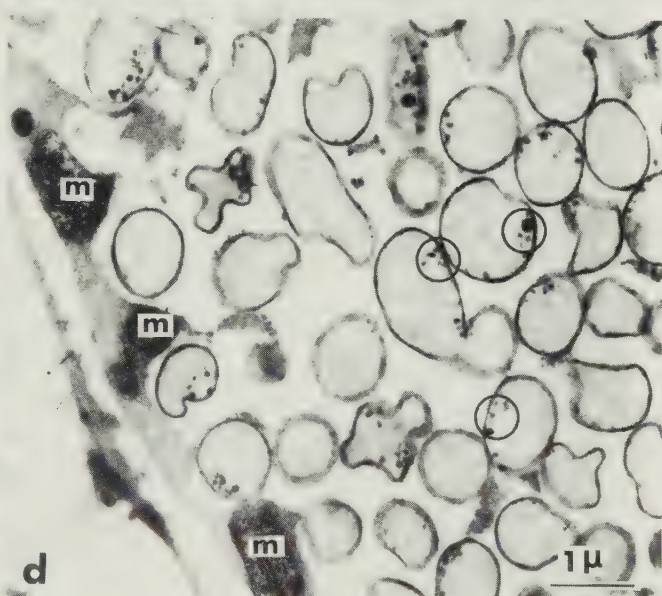
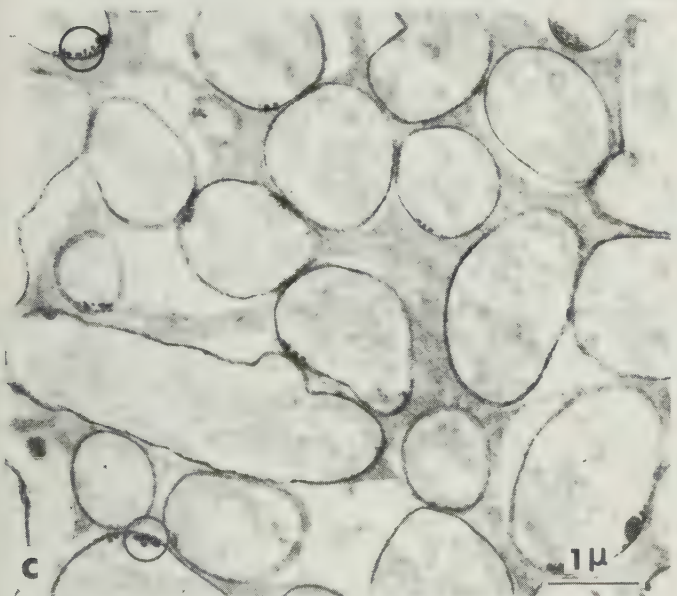
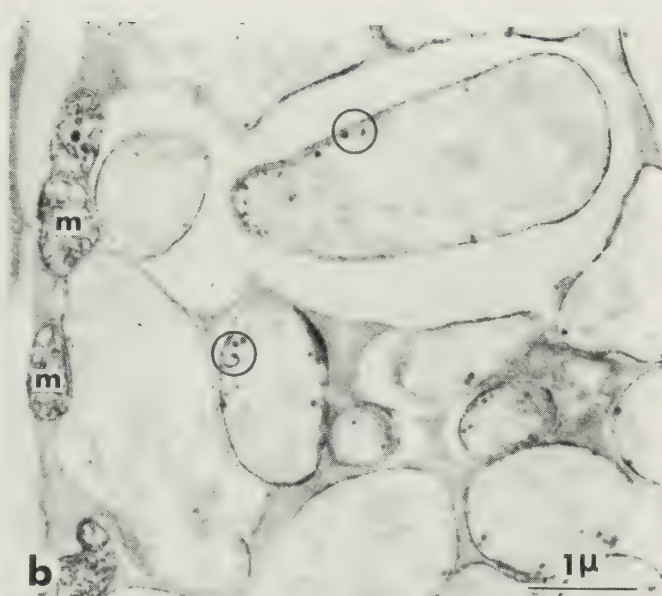
m : mitochondrie ; P : plaste; mé : méat aérifère.

(original non publié)



- Fig. a : les mitochondries (m), l'espace périplasmique et quelques vésicules (cercles noirs) des bactéroïdes d'un nodule de *Vicia sativa* L. ont réagi positivement après incubation dans le milieu à la DAB, pH 6.
- Fig. b : les mitochondries (m), l'espace périplasmique et quelques vésicules (cercles noirs) des bactéroïdes d'un nodule de *Vicia hirsuta* L. ont réagi positivement après incubation dans le milieu à la DAB pH 6.
- Fig. c : l'espace périplasmique et quelques vésicules (cercles noirs) des bactéroïdes d'un nodule de *Medicago maculata* Sibth. ont réagi positivement après incubation dans le milieu à la DAB pH 6.
- Fig. d : les mitochondries (m), l'espace périplasmique et quelques vésicules (cercles noirs) des bactéroïdes d'un nodule d'*Anthyllis vulneraria* L. ont réagi positivement après incubation dans le milieu à la DAB pH 6.
- Fig. e : les mitochondries (m), l'espace périplasmique et quelques replis membranaires invaginés à partir de la membrane plasmique des bactéries différenciées dans le tissu rouge (zone III) d'un nodule de *Lupinus angustifolius* L., ont réagi positivement après incubation dans le milieu à la DAB pH 6.
- Fig. f : le plasmalemma et la lamelle moyenne de la cellule-hôte, l'espace périplasmique et des buissons de vésicules (pointes de flèches ►) dérivés de la membrane plasmique des bactéroïdes d'un nodule de *Sarothamnus scoparius* L., montrent une réaction faiblement positive après incubation dans le milieu à la DAB à pH 8. Les mitochondries (m) ne montrent pas ce contraste.

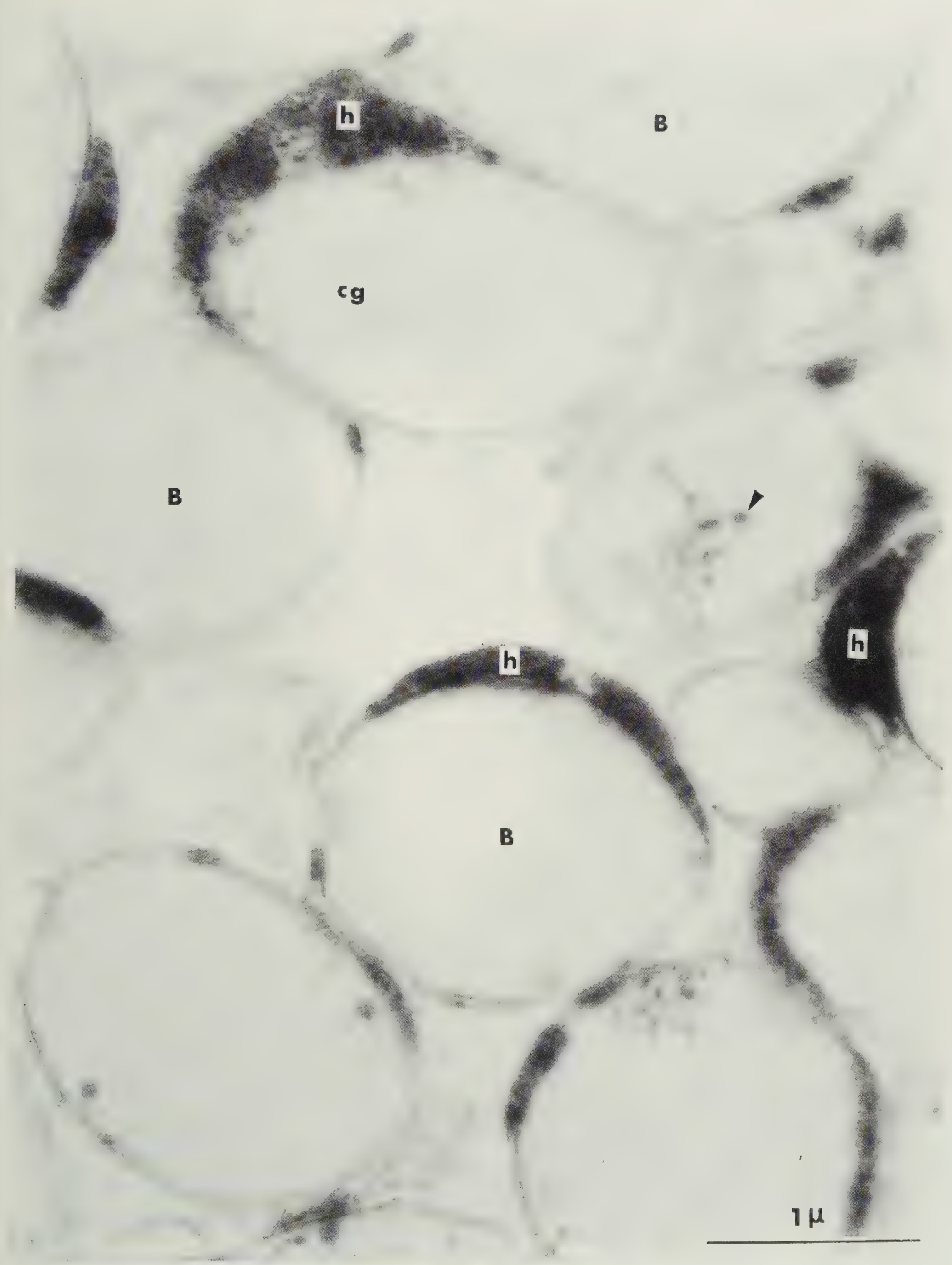
(originaux non publiés)



Le milieu d'incubation contenait la 3,3'-diaminobenzidine dans un tampon propanediol de pH 9 final et de l'eau oxygénée à 1%.

La figure montre les bactéroïdes de la zone rouge d'un nodule de *Trifolium repens*. La substance dense aux électrons qui se trouve dans l'espace vacuolaire autour de chaque bactéroïde et qui donne un produit de réaction très osmiophile à ce pH d'incubation, est très vraisemblablement la leghémoglobine détectée par sa fonction peroxydasique. Noter qu'à ce pH le système vésiculaire et l'espace périplasmique des bactéroïdes ont également réagi mais moins intensément qu'à pH 6.

(Gourret et Fernandez-Arias, *Can. J. Microbiol.*, 20, 1169-1181, 1974)



DAB à pH 10

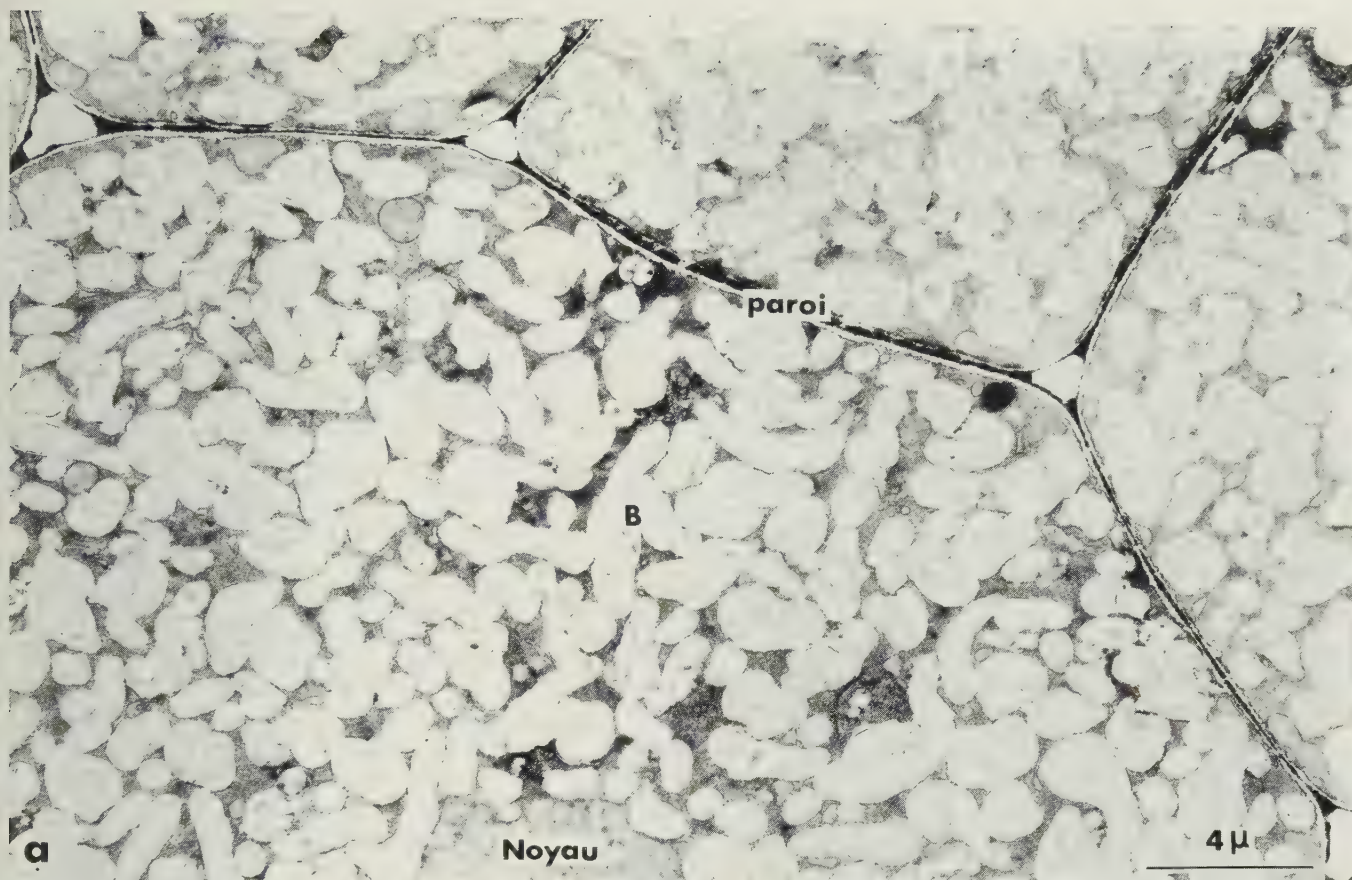
Fig. a : dans ces cellules du tissu rouge (zone III) d'un nodule d'ajonc (*Ulex europaeus* L.), l'incubation dans le milieu à la DAB à pH 10, a mis en évidence la couche pectique constituant la lamelle moyenne et le pourtour des méats des cellules-hôtes. Le plasmalemme de celles-ci et certains profils de reticulum endoplasmique montrent aussi une réaction positive dans ce cas.

La figure illustre, en plus, la forme contournée des bactéroïdes de *Rhizobium torulosum* Dangeard dans ce nodule d'ajonc.

DAB à pH 8

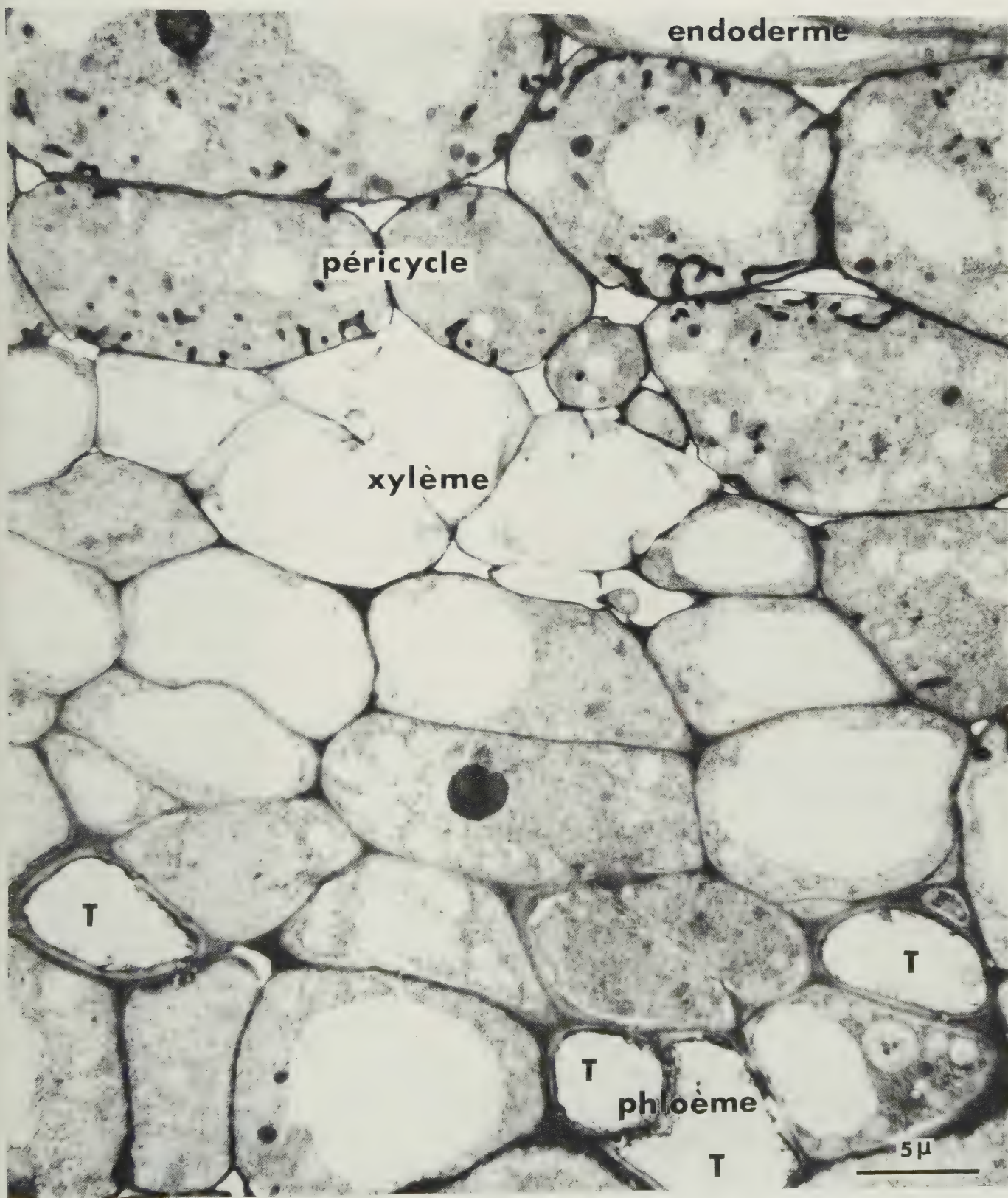
Fig. b : dans ces cellules du tissu rouge (zone III) d'un nodule de vesce (*Vicia sativa* L.) l'incubation dans le milieu à la DAB à pH 8 a mis en évidence la leghémoglobine (h) sous forme de croissants ou de lentilles situées entre les bactéroïdes de *Rhizobium leguminosarum* et la membrane enveloppe. La lamelle moyenne des parois réagit très légèrement. Ce résultat est du même type que celui de la planche 48.

(originaux non publiés)



Cette photographie de microscopie électronique à faible grossissement (x 4 500) montre une portion de l'un des faisceaux conducteurs d'un nodule de *Trifolium repens*. Ces faisceaux contiennent un pôle de xylème et un pôle de phloème entourés par une couche péricyclique de cellules de transfert caractérisées par leurs invaginations cellulosesiques apparaissant ici en noir. Les assises péricycliques sont elles-mêmes entourées d'un endoderme à cellules à cadre (en haut de la photographie). T : tube criblé.

(original non publié)



Dans les vacuoles des cellules non-infectées du tissu rouge
des nodules de *Vicia hirsuta* L.

Fig. a : On voit ici côte à côte une cellule infectée avec des bactéroïdes (B) et une cellule non-infectée dont le contenu vacuolaire montre une structure remarquable qui s'interprète en faisant appel à la notion de cristall-liquide. Un espace clair (*) qui est sans doute une rétraction artefactique résultant des processus de fixation et d'inclusion, sépare le contenu vacuolaire du cytoplasme de la cellule. Le tonolemma (membrane de la vacuole) semble avoir disparu. Le contenu vacuolaire est constitué d'une phase isotrope où baignent des germes fusiformes de cristaux-liquides du type cholestérique. En réalité comme nous ne connaissons pas les propriétés physiques et en particulier les propriétés optiques de ces inclusions, il sera plus exact de parler seulement de pseudomorphoses étant donné que ce terme, créé par Bouligand, impliquera seulement la description de la structure géométrique des inclusions.

Fig. b, c, d : Pseudomorphoses cholestériques de différentes tailles, coupées suivant différents angles.

Fig. e : Agrandissement de la figure d, montrant l'alternance de bandes fibreuses et de bandes "ponctuées". En réalité toute la masse des inclusions est constituée de fibres et c'est la torsion continue de ces fibres les unes par rapport aux autres qui détermine leur aspect photographique.

La texture de ces pseudomorphoses a été décrite par Bouligand (1975). Elle correspond à une disinclinaison λ^2+ dans la terminologie de Friedel et Kléman (1970).

On peut aussi penser que les images ci-contre représentent un cas particulier du colloïde protéique vacuolaire, caractéristique des Légumineuses. En effet ces plantes se distinguent par la composition particulière de leur vacuole (Buvat, 1969). Robinson (1961, 1966) a par ailleurs montré que des polypeptides en solution peuvent former des cristaux-liquides de type cholestérique.

(originaux non publiés)

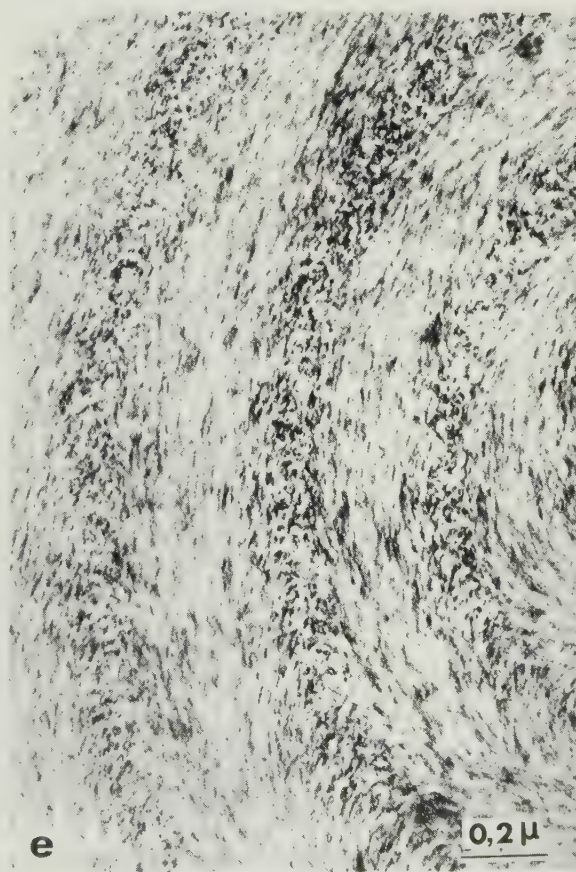
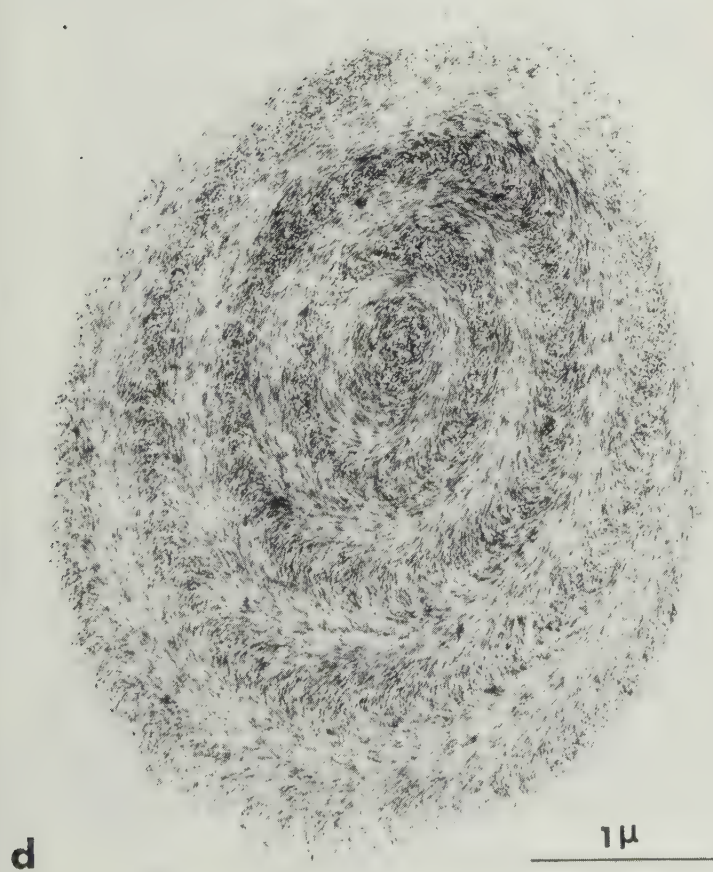
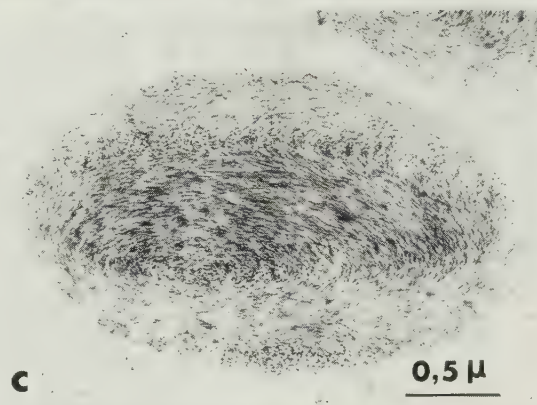
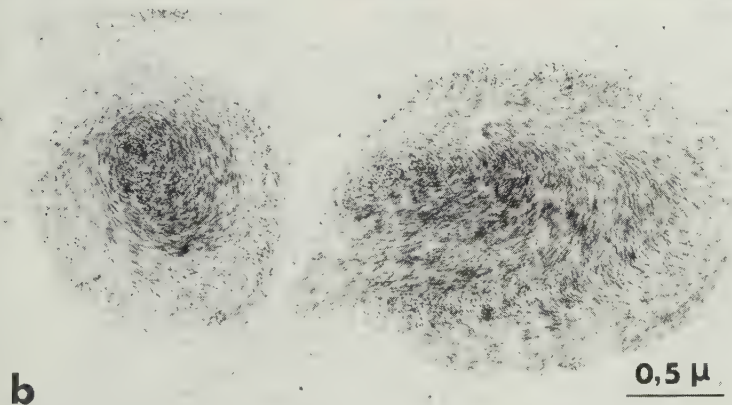
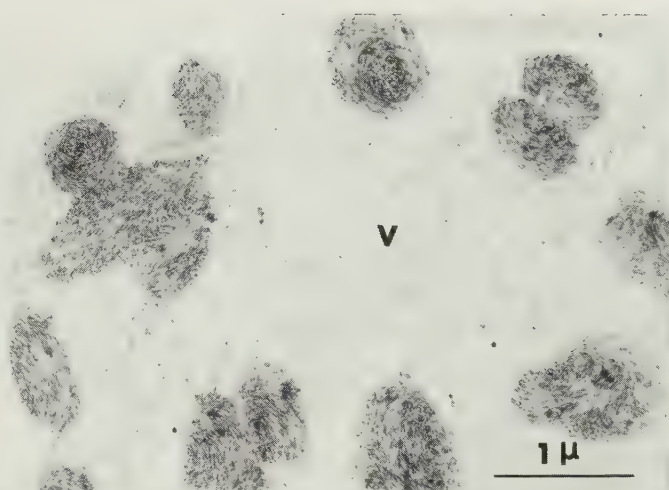
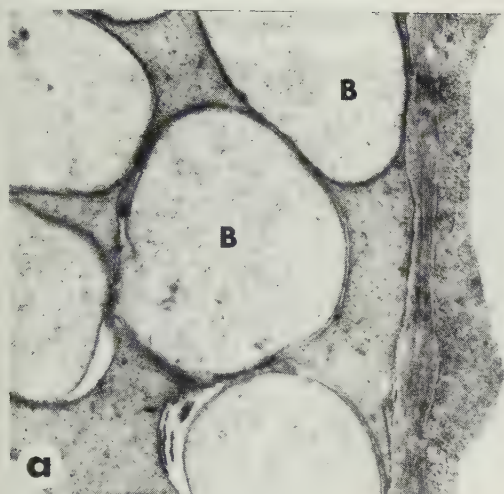


Planche 52 OBSERVATION CONCOMITANTE DE BACTEROIDES ANORMAUX ET D'UNE INFECTION VIRALE
DANS UN NODULE DE *VICIA SATIVA* L.

Les bactéroïdes anormaux sont caractérisés par une ségrégation des ribosomes en certains secteurs des cellules (fig. b,c,d) et par l'accumulation paracristalline en tétramères de ces ribosomes (ou d'une de leurs fractions)(fig. a). On peut remarquer que les tétramères se raccordent ici les uns aux autres par leurs côtés et non pas par les sommets des carrés qu'ils déterminent comme c'est le cas dans les autres tétramères qui ont été signalés (Nanninga, 1973).

Le virus apparaît sous forme de filaments flexueux (Fig. g et h, coupe transversale des virions) associés à des profils de reticulum endoplasmique formant ainsi des inclusions remarquables par leur régularité géométrique (Fig. e et encart). Les virions se disposent parallèlement aux tubules du reticulum dans un ordre qui évoque la position relative de l'actine et de la myosine dans certains muscles striés.

Le virus se manifeste aussi par des inclusions lamellaires qui se trouvent dans le cytoplasme des cellules de la vesce (Fig. f) ou associées aux plasmodesmes (Fig. i) et par des inclusions cristallines désorganisant le nucléole (nu). Tous ces éléments structuraux sont caractéristiques des virus à RNA en filaments flexueux (Flexiviridales Hirth, 1971) et de leur mode d'action dans les cellules infectées. (Edwardson et coll., 1968, Weintraub et Ragetli, 1966, 1974; Buvat, 1974).

D'autres inclusions remarquables en pseudomorphose cholestérique ("contre-plaqué" de filaments) existent dans les cavités du reticulum endoplasmique (Fig. j,k). Ces inclusions pourraient être une accumulation d'un constituant normal de la légumineuse étant donné que De Zoeten et coll. en ont observé d'identiques dans un pois sain (1972). Par contre Russel (1972) les a signalés dans des cellules de pois infecté par le virus de la mosaïque vénétienne. Leur signification n'est donc pas claire pour l'instant. RE : reticulum endoplasmique; N : noyau.

De la confrontation des observations contenues dans cette planche, on peut se demander si la multiplication du virus (sans doute proche du virus de la mosaïque du pois) n'interfère pas à la fois avec l'appareil de synthèse protéique de la plante-hôte, mais aussi avec celui des bactéroïdes de *Rhizobium leguminosarum*? Comme les observations ont été réalisées fortuitement sur un nodule spontané, il sera intéressant de reprendre expérimentalement le problème sur un modèle biologique adéquat.

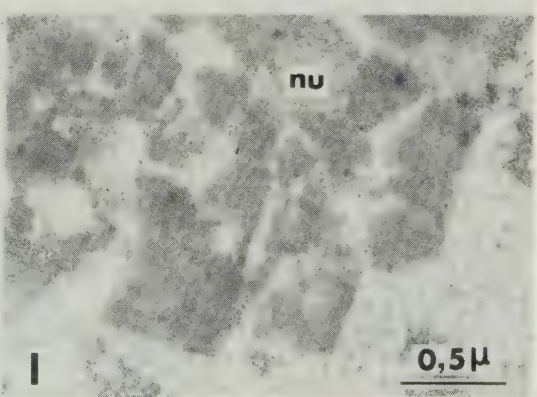
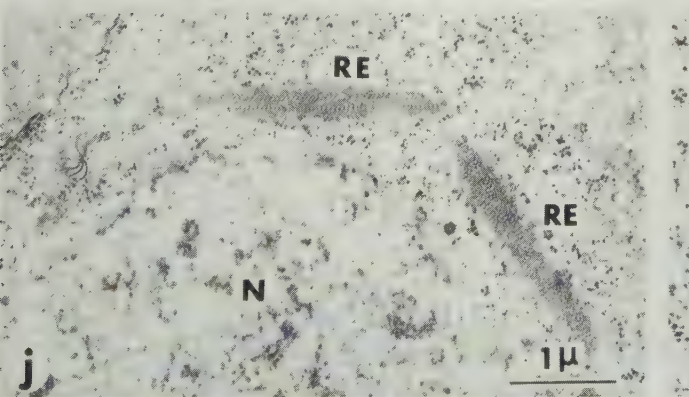
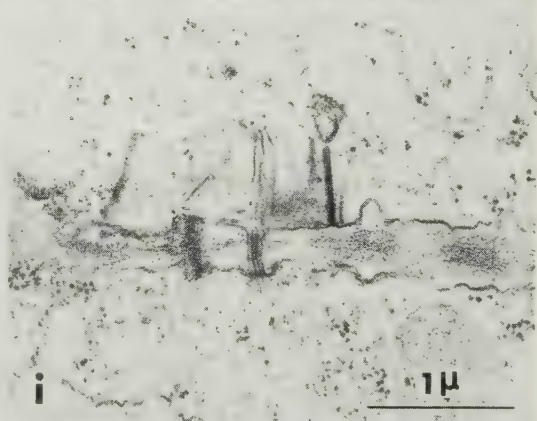
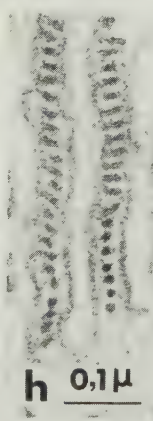
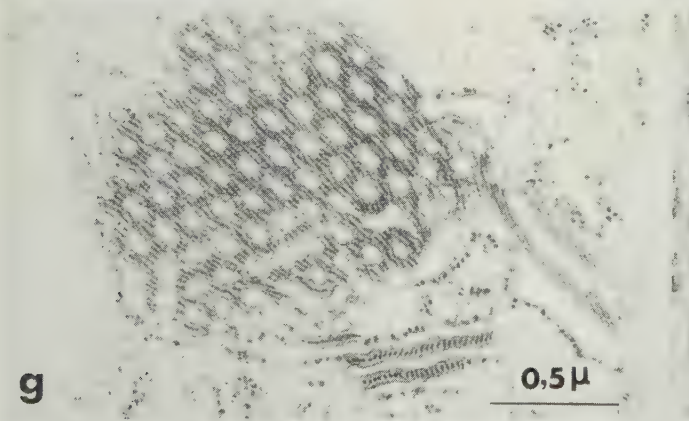
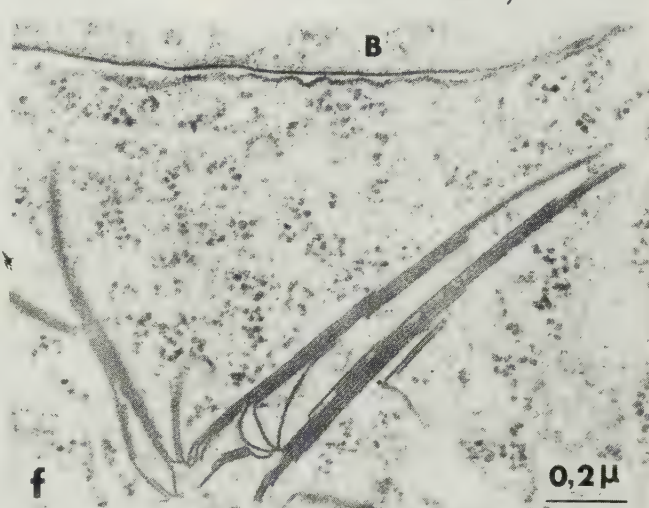
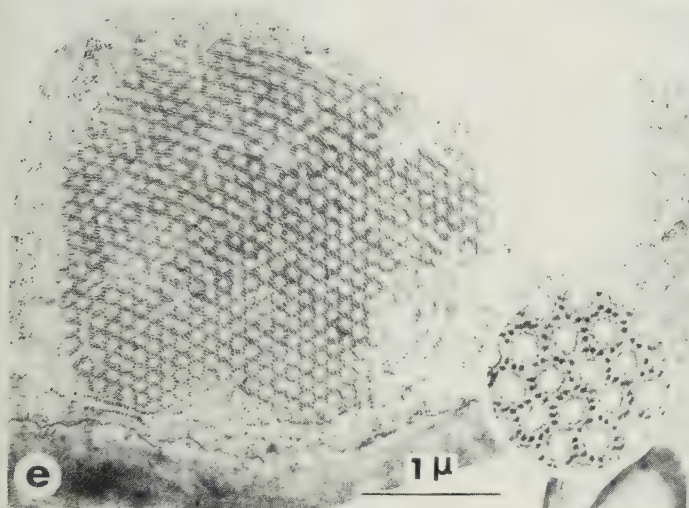
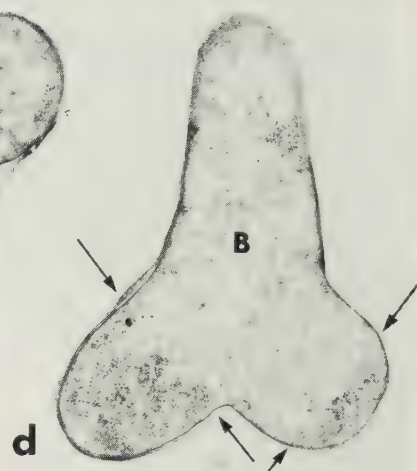
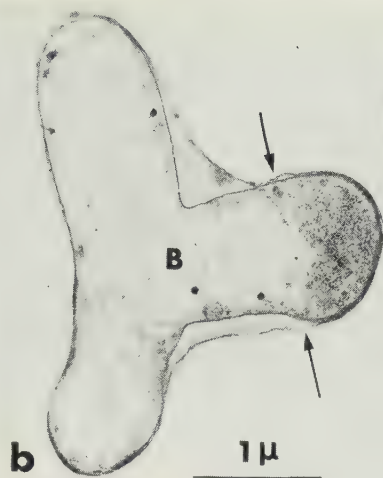
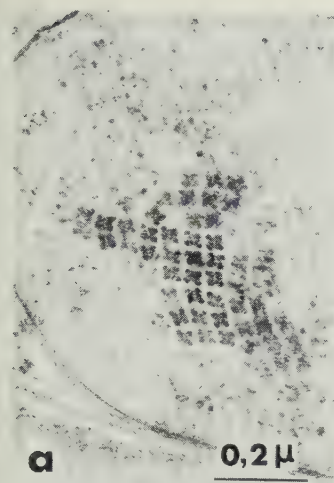


Fig. a - Dans cette cellule de la zone centrale d'un nodule allongé et blanchâtre de *Trifolium repens* phyllodié et contenant des mycoplasmes dans le phloème, les *Rhizobium* sont très hétérogènes. Parmi les bactéroïdes que l'on pourrait présumer normaux, un grand nombre de vacuoles contiennent des bactéries qui sont manifestement en dégénérescence étant donné leur densité aux électrons. (B dégén.).

Fig. b - Les bactéroïdes dégénérescents de ce même nodule contiennent de nombreuses granulations qui réagissent positivement par la méthode de Thiéry à l'acide periodique -T.C.H.- protéinate d'argent. Il s'agit vraisemblablement de glycogène α (Shively, 1974). (voir Pl. 44).

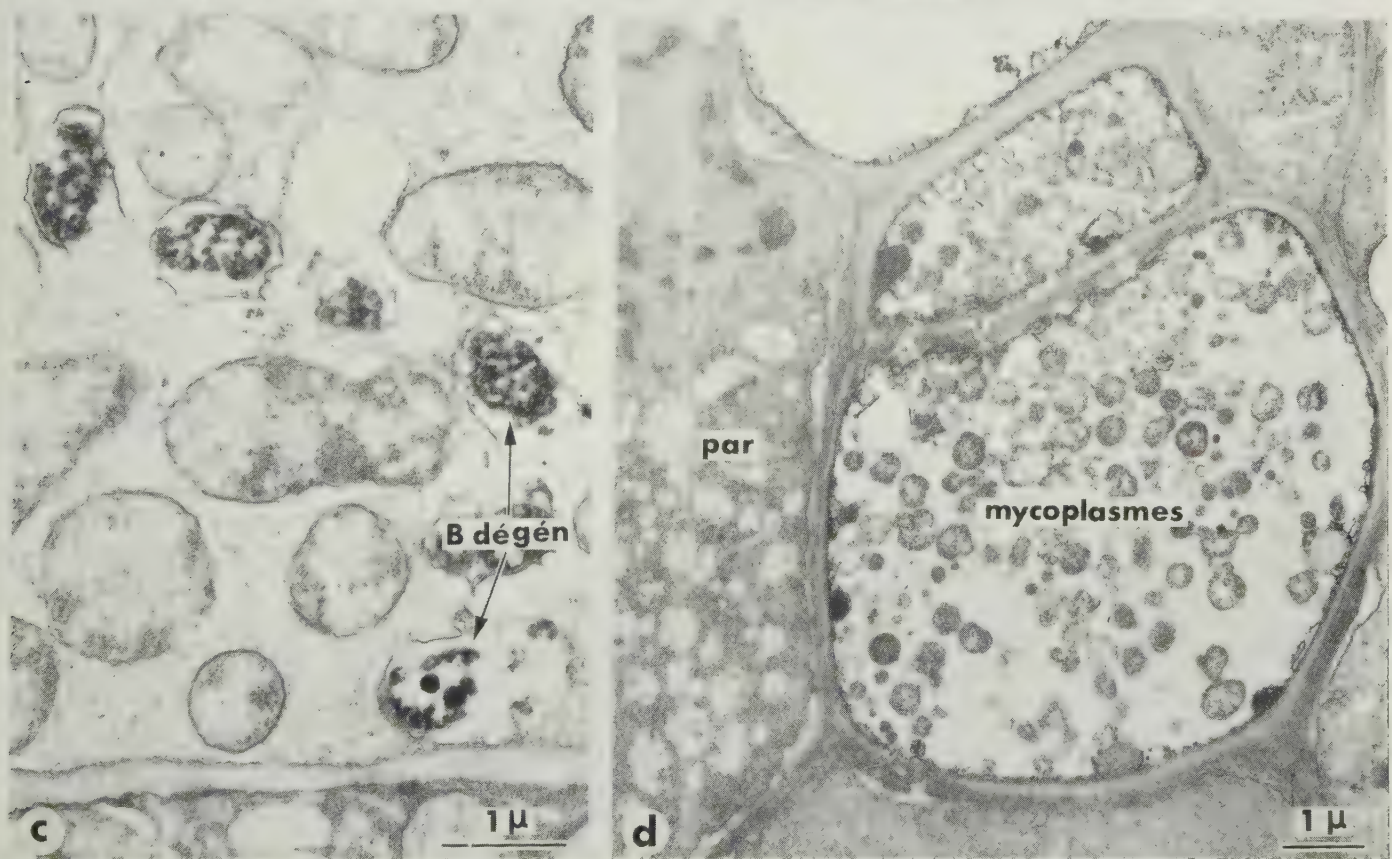
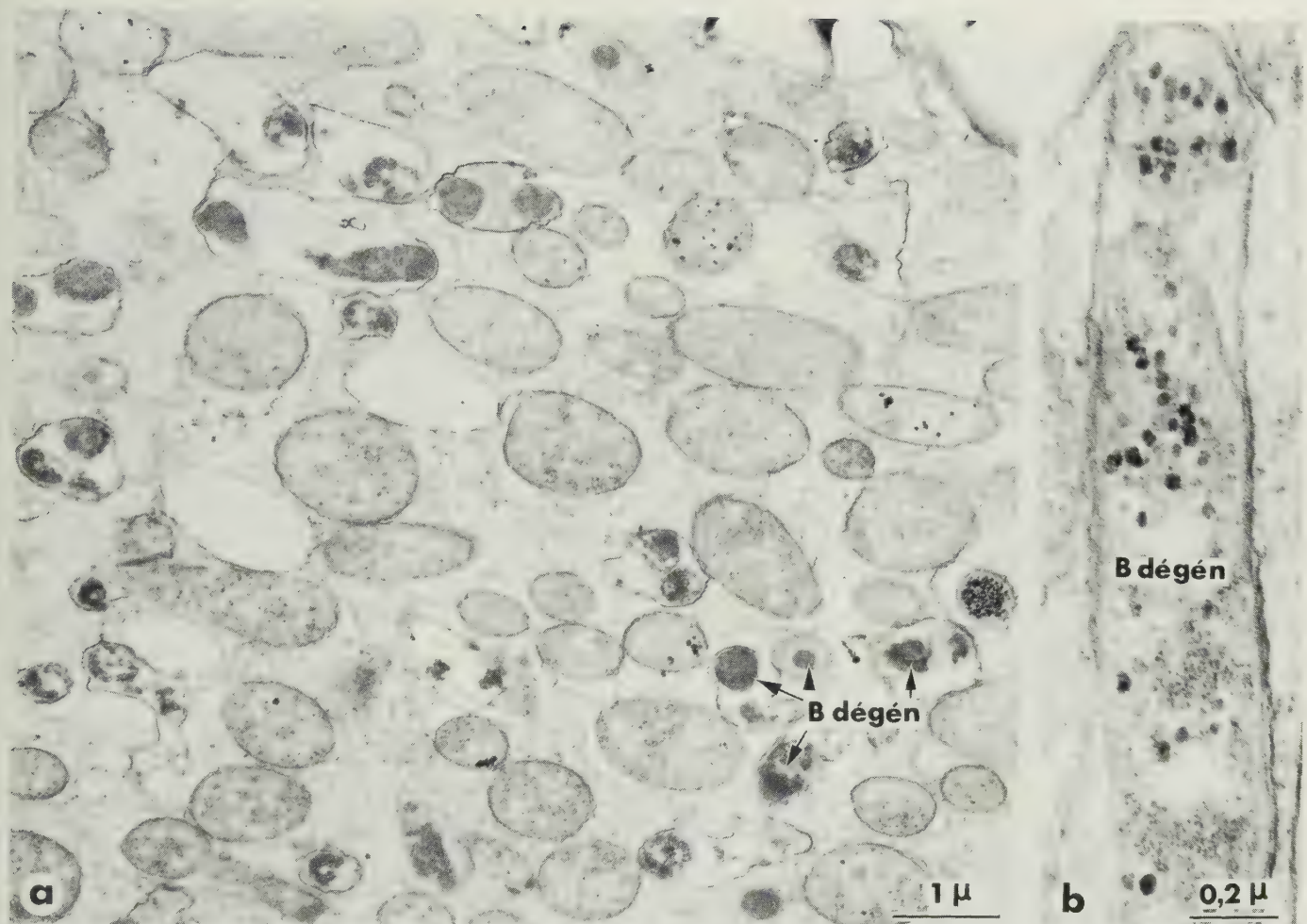
Fig. c - Vue partielle d'une cellule de la zone centrale d'un autre nodule blanchâtre de *Trifolium repens* infecté par des mycoplasmes de la phyllodie. Ici encore, parmi des bactéroïdes d'apparence normale, on observe d'autres bactéries qui dégènèrent.

Fig. d - Mycoplasmes dans le phloème d'un faisceau du nodule correspondant à celui de la figure c. Les mycoplasmes sont nombreux dans les tubes criblés et dans le hyaloplasme d'une cellule de parenchyme libérien (par).

En résumé, par leur présence dans le phloème des faisceaux conducteurs du nodule, les mycoplasmes empêcheraient un bon nombre de *Rhizobium* de se développer normalement en bactéroïdes efficients. Ce mode d'action des mycoplasmes se rapprocherait donc de l'inefficience décrite par Pankhurst et coll., 1972, relative à un mutant riboflavine de *Rhizobium trifolii* ou bien celle qui caractérise certains mutants auxotrophes pour l'adénine et pour l'uracile étudiés par Truchet et Dénarié (1973). Bien que le problème de l'interaction entre Mycoplasmes et *Rhizobium* soit très complexe comme en témoignent les résultats de Joshi et Carr (1967), Joshi, Carr et Jones (1967), il sera intéressant de reconsidérer cette question dans des conditions expérimentales rigoureusement contrôlées.

(originaux non publiés, sauf :

Fig. d, Gourret, Maillet, Gouranton, *J. gen. Microbiol.*, 74, 241-249, 1973)

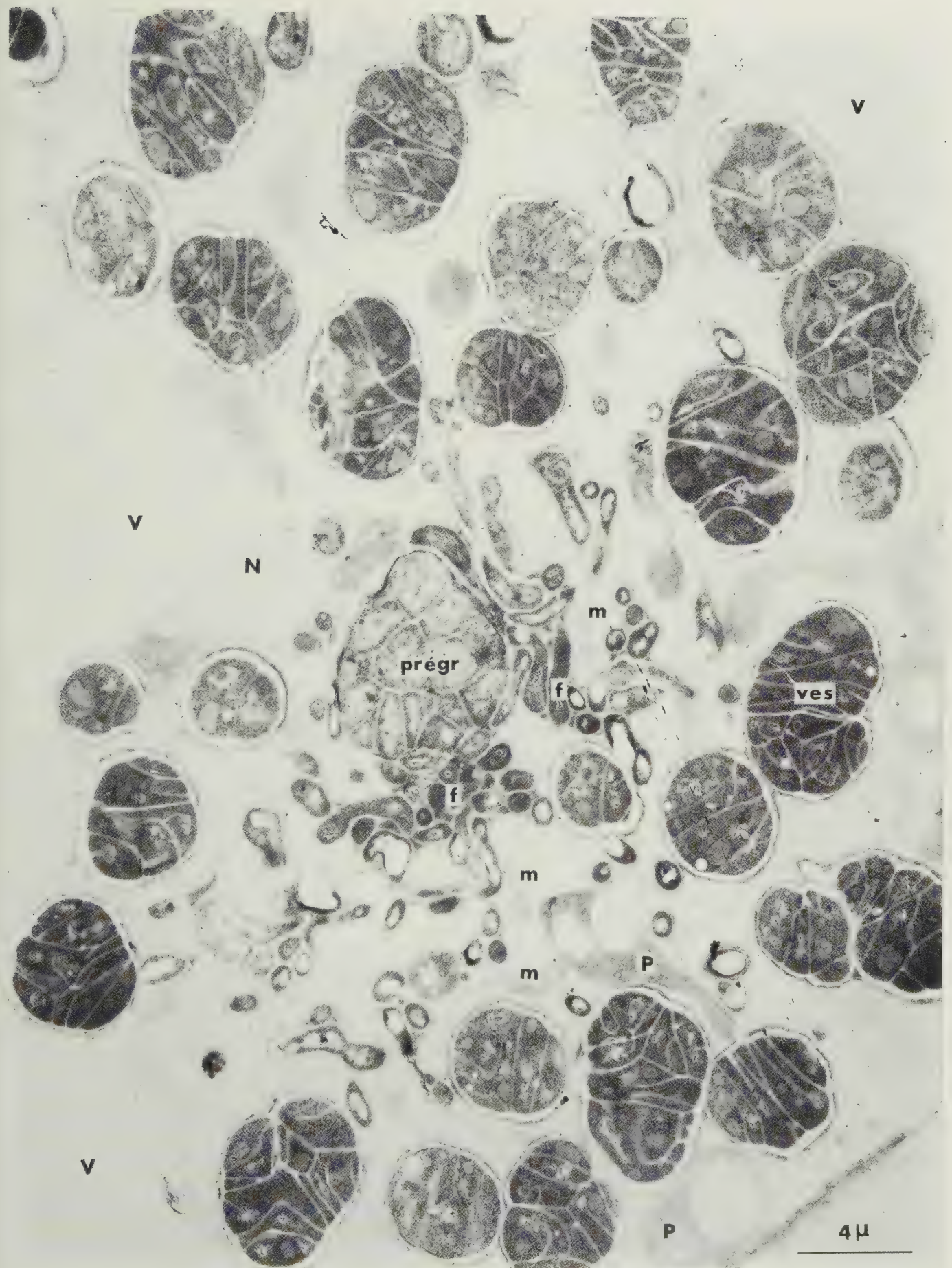


Dans cette cellule de parenchyme cortical abritant l'Actinomycète symbiotique d'un nodule d'*Alnus glutinosa*(L) Gaertn., on peut observer trois stades de développement de l'endophyte : 1) le stade filamenteux (f); 2) les vésicules (ves); 3) un amas cordiforme qui s'étendra et engendrera des granules, d'où le nom de prégranules (pre gr.) donné aux éléments qui le constituent. Les vésicules occupent une position périphérique par rapport aux filaments, mais l'amas prégranulaire apparaît au milieu de ceux-ci.

N : noyau de la cellule-hôte; V : vacuole de la cellule-hôte; P : plaste.

Les nodules ont été prélevés sur des aulnes (*Alnus glutinosa* (L) Gaertn) poussant dans la région de Rennes.

(original non publié)



Dans cette photographie on reconnaît des éléments analogues à ceux qui existaient dans la précédente : les filaments (f) et les vésicules cloisonnées de l'endophyte (ves), les plastes (P), les mitochondries (m), le noyau (N), les vacuoles (V) de la cellule-hôte.

Cependant, le voisinage avec une cellule non infectée permet de déduire certaines modifications induites dans la cellule abritant l'Actinomycète. La comparaison des noyaux est en particulier très frappante. Le noyau (No) de la cellule non infectée est petit et dense aux électrons alors que le noyau (N) de la cellule infectée est très volumineux et possède un gros nucléole (nu), et la zone euchromatinienne y est quasi-générale. Corrélativement le cytoplasme de la cellule infectée est beaucoup plus développé que dans la cellule non infectée.

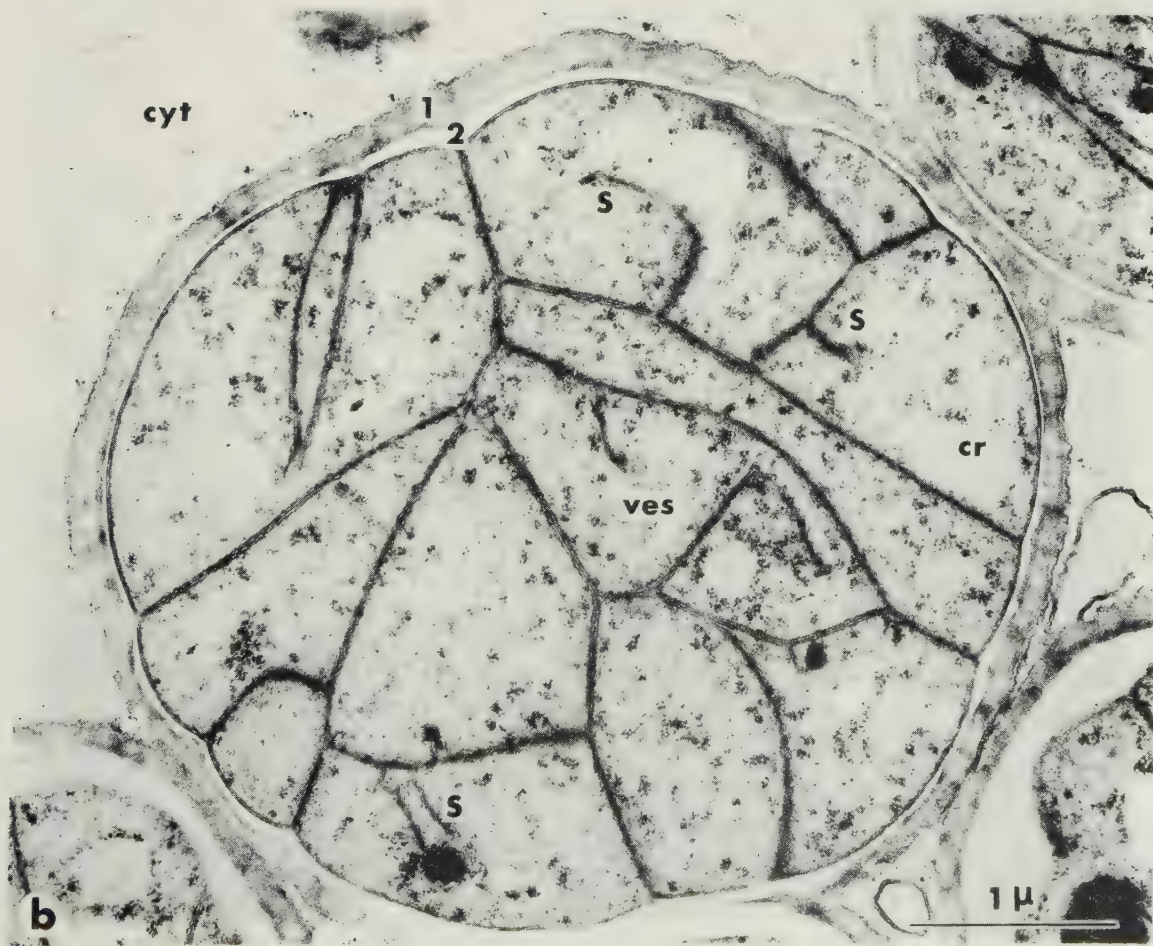
(original non publié)



Dans les vésicules qui sont cloisonnées par des septums (S) dont on imagine la croissance, chaque compartiment équivaut à une cellule bactérienne avec son DNA, ses ribosomes, sa membrane plasmique et sa paroi de type Gram-positif (comme on peut l'observer à fort grossissement). Des inclusions striées ou ponctuées selon le plan de la coupe (cr) existent dans chaque cellule élémentaire. Les facettes qui les limitent et leur trame régulière font penser à des cristaux protéiques. Ne pourrait-il pas s'agir de la nitrogénase?

Les vésicules sont contenues dans les logettes formées par la paroi cellulosique de l'hôte (1). L'espace clair (2) qui sépare les vésicules de cette paroi est sans doute une rétraction artefactique. Le plasmalemma de l'hôte revêt extérieurement ces logettes.

(originaux non publiés)

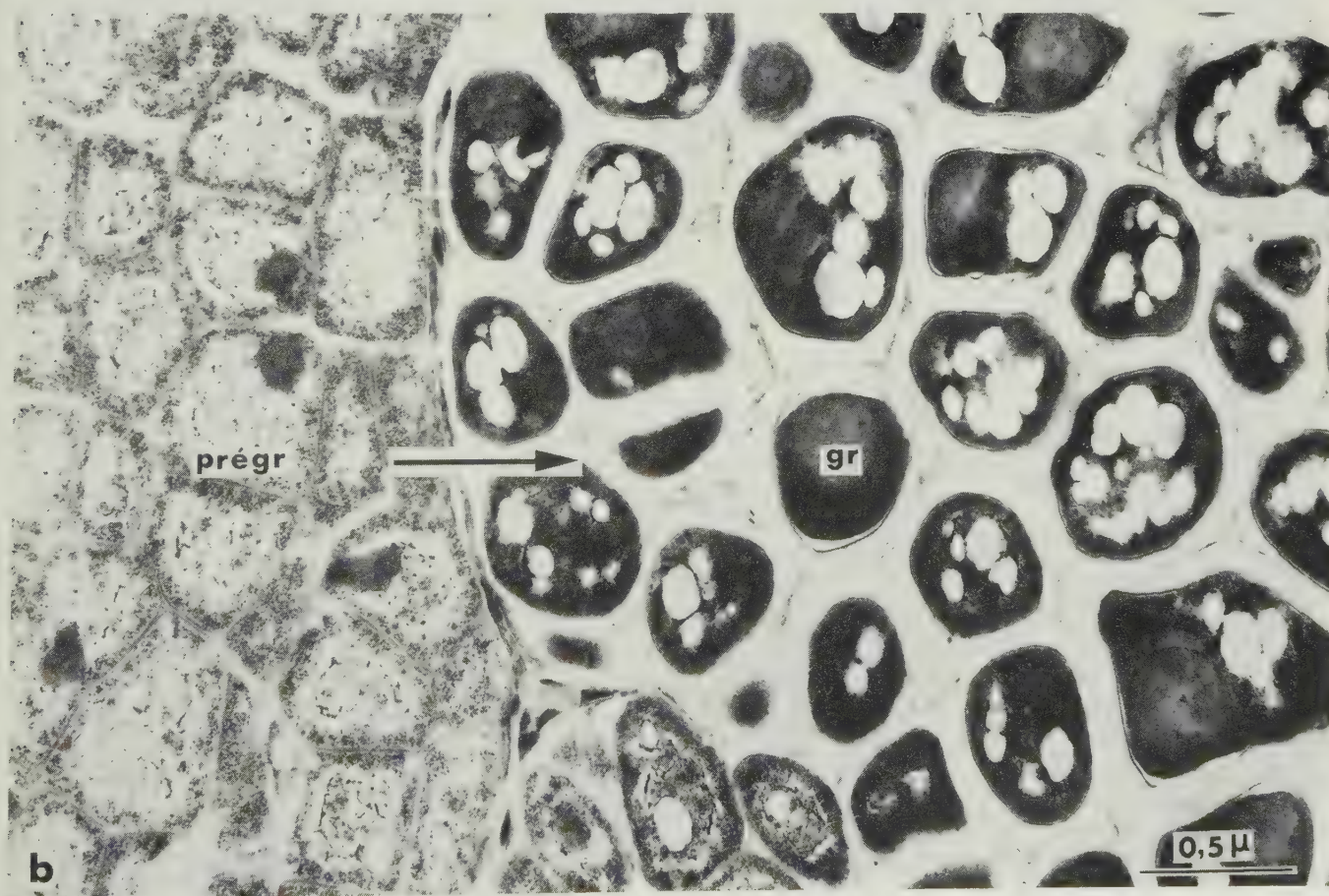
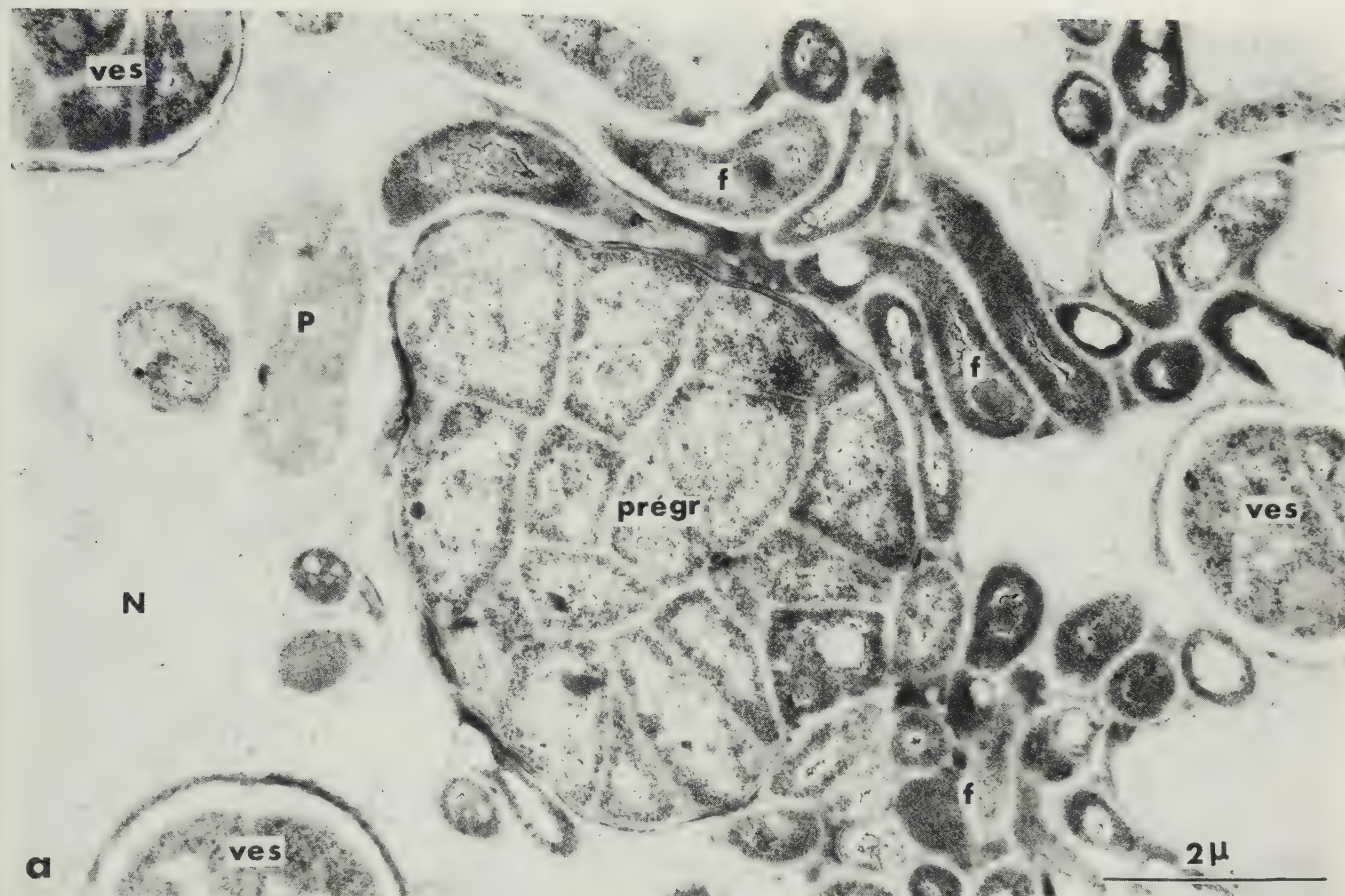


La figure a, représente à un plus fort grossissement l'amas cordiforme prégranulaire de la Planche 54 (pre gr.).

N : noyau de la cellule-hôte; P : plaste de la cellule-hôte; f : filament; ves. : vésicule.

Dans la figure b, l'examen de la préparation entière suggère l'évolution dans le sens de la flèche. Les cellules élémentaires qui constituent l'amas prégranulaire se dissocient, s'arrondissent et deviennent plus denses aux électrons.

(originaux non publiés)



Détails structuraux des filaments, des vésicules et des granules

Fig. a : filament cloisonné par un septum (s) auquel sont associés des mésosomes (ms). -P : plaste.

Fig. b : Mésosome d'une cellule de vésicule, formé d'élément(s) tubulaire(s).

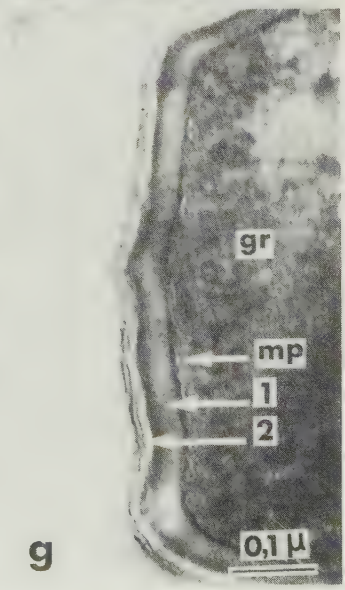
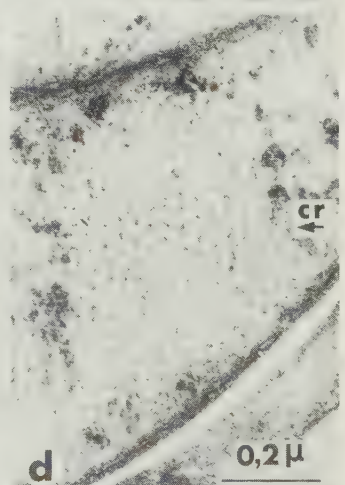
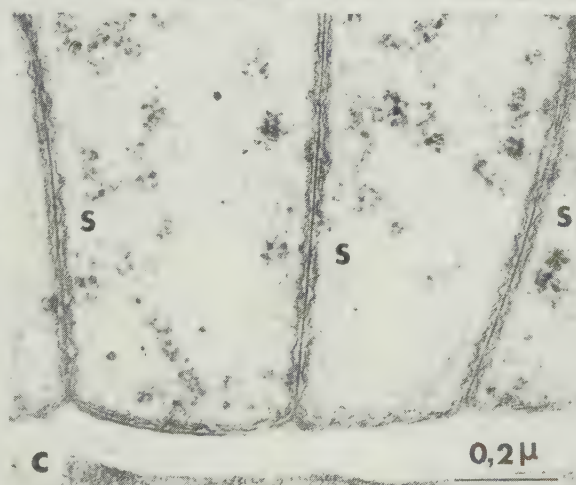
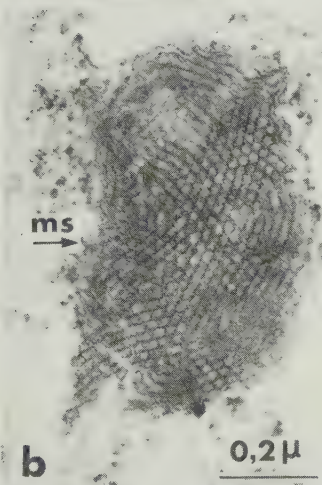
Fig. c : Les cloisons séparant les cellules d'une vésicule. Les membranes plasmiques de deux cellules adjacentes sont séparées par une couche qui contient sans doute le mucopeptide de la paroi.

Fig. d : Vue à fort grossissement d'une inclusion ponctuée d'une cellule de vésicule.

Fig. e : Prégranules et granule.

Fig. f et g : La microscopie électronique révèle une particularité intéressante de la paroi des granules. En effet au delà de la membrane plasmique (mp), il existe maintenant une couche 1 beaucoup plus épaisse que dans tous les stades précédents et surtout une couche lamellaire faite d'une alternance de feuillets sombres et de feuillets clairs en nombre variable (pas nécessairement deux sombres et un clair comme dans une membrane unitaire, mais souvent plus). Il sera intéressant de voir la réaction de Gram sur ces granules (nous présumons qu'elle est devenue négative alors que les stades précédents seraient positifs).

(originaux non publiés)



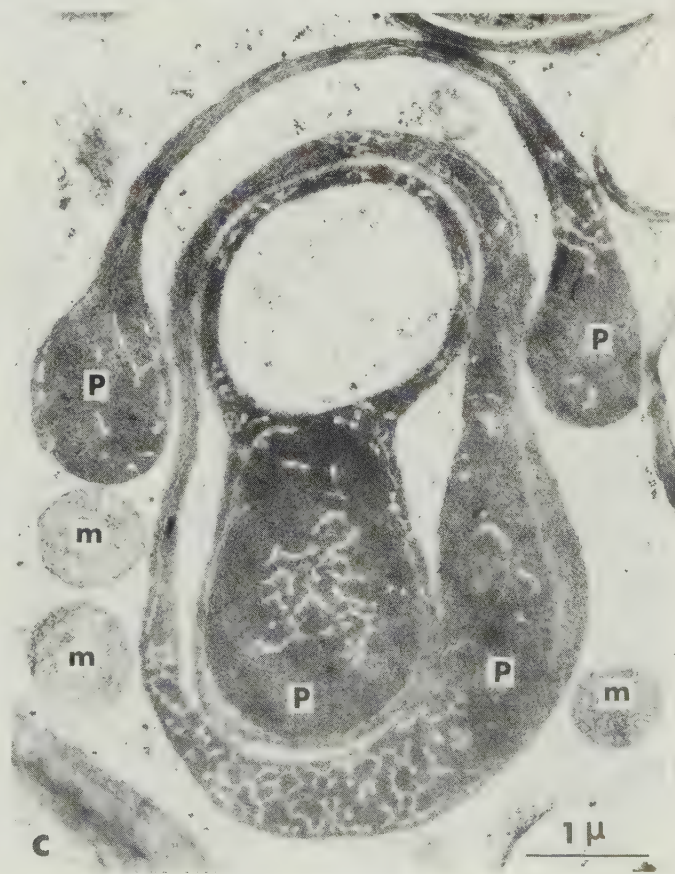
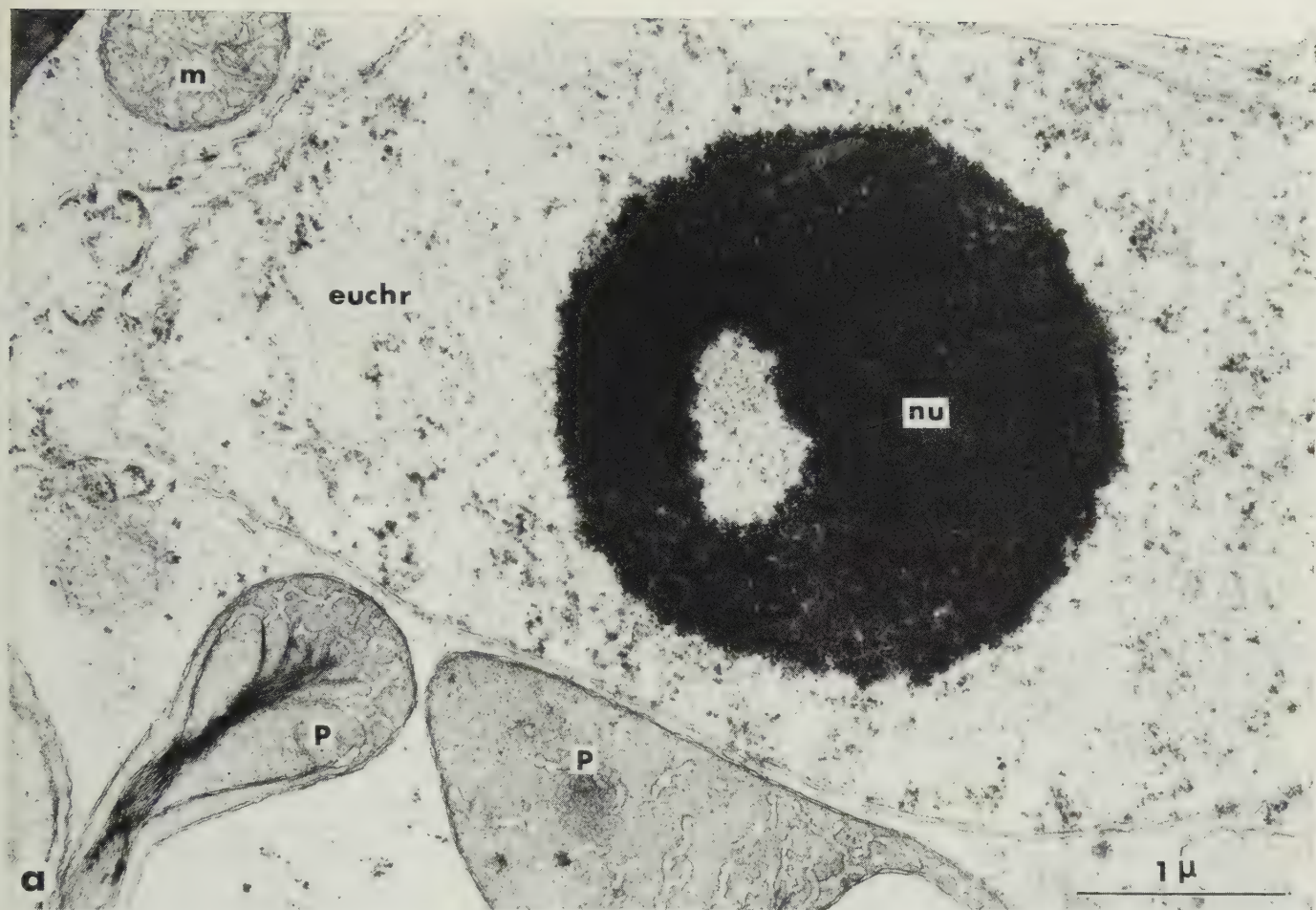
Noyau et plastes de la cellule-hôte

Une des actions de l'endophyte sur sa cellule peut être résumée comme une activation de son système de synthèse protéique. L'augmentation de volume du noyau correspond vraisemblablement à une polyploïdisation du génome nucléaire. L'accroissement du nucléole (nu) et l'extension de la zone euchromatinienne peuvent être compris comme des signes indiquant un accroissement de la transcription. L'augmentation du cytoplasme et du nombre des ribosomes correspondrait à une accentuation de la traduction des RNA messagers.

Une autre action de l'endophyte concerne les plastes. Dans les cellules infectées depuis longtemps -contenant en particulier des vésicules- les plastes montrent un réseau de tubules anastomosés en continuité d'une part avec la membrane interne des plastes et d'autre part avec des figures myéliniques denses aux électrons (Fig. a, b). Ces plastes de forme auriculée peuvent s'engrener les uns dans les autres (Fig. c).

m : mitochondrie; euchr : zone euchromatinienne.

(originaux non publiés)



Tout comme *Alnus glutinosa*, *Hippophaë rhamnoides* L. forme des nodules par intégration cellulaire d'un Actinomycète se propageant dans certaines cellules corticales. Des filaments (f) et des vésicules sont également formées. Cependant nous n'y avons pas trouvé d'amas prégranulaires, ni de granules. De plus, il semble que l'endophyte soit partiellement lysé dans les cellules de son hôte. Les vésicules altérées sont indiquées par un astérisque.

V : vacuole de la cellule-hôte; mé : méat aérifère intercellulaire; f : filament; ves : vésicules.

Les nodules ont été prélevés sur les *Hippophaë rhamnoides* L. de la pointe de la Garde à Saint Cast (Côtes du Nord).

(original non publié)

mé

ves

v

v

*

f

*

ves

v

paroi

*

*

*

2μ



Des filaments (f) sont cloisonnés par des septums (S) transversaux. Ils sont de nature procaryotique étant donné la disposition relative du DNA par rapport aux ribosomes (Fig. a). Ils engendrent à leur extrémité des vésicules comme le suggère l'existence de pédoncules orientés radialement vers le centre des cellules-hôtes (astérisques). Ces vésicules qui sont aussi évidemment de nature procaryotique contiennent les mêmes éléments que ceux déjà signalés dans les vésicules des nodules d'*Alnus*. Le plasmalemme de la cellule-hôte et la couche cellulosique forment des logettes à l'intérieur desquelles se trouve une vésicule (Fig. c). L'arrangement tubulaire des mésosomes est particulièrement visible dans les figures b et d.

Des inclusions fibreuses ou ponctuées s'observent comme dans les nodules d'*Alnus*.

pl : plasmalemme de l'hôte; 1 : paroi cellulosique de l'hôte; 2 : rétraction artefactique; cyt : cytoplasme de la cellule-hôte; P : plaste; V : vacuole de la cellule-hôte; ms : mésosome.

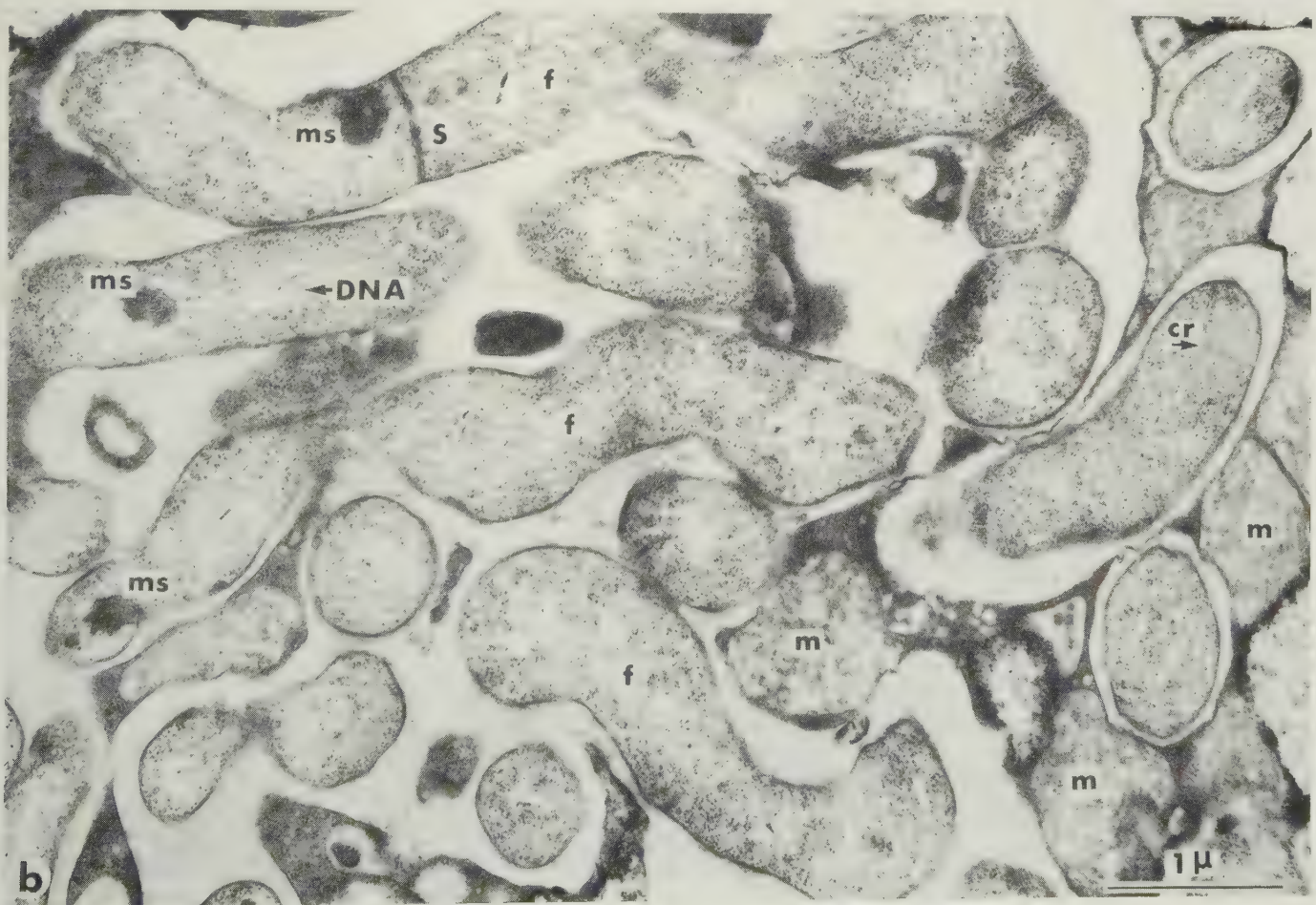
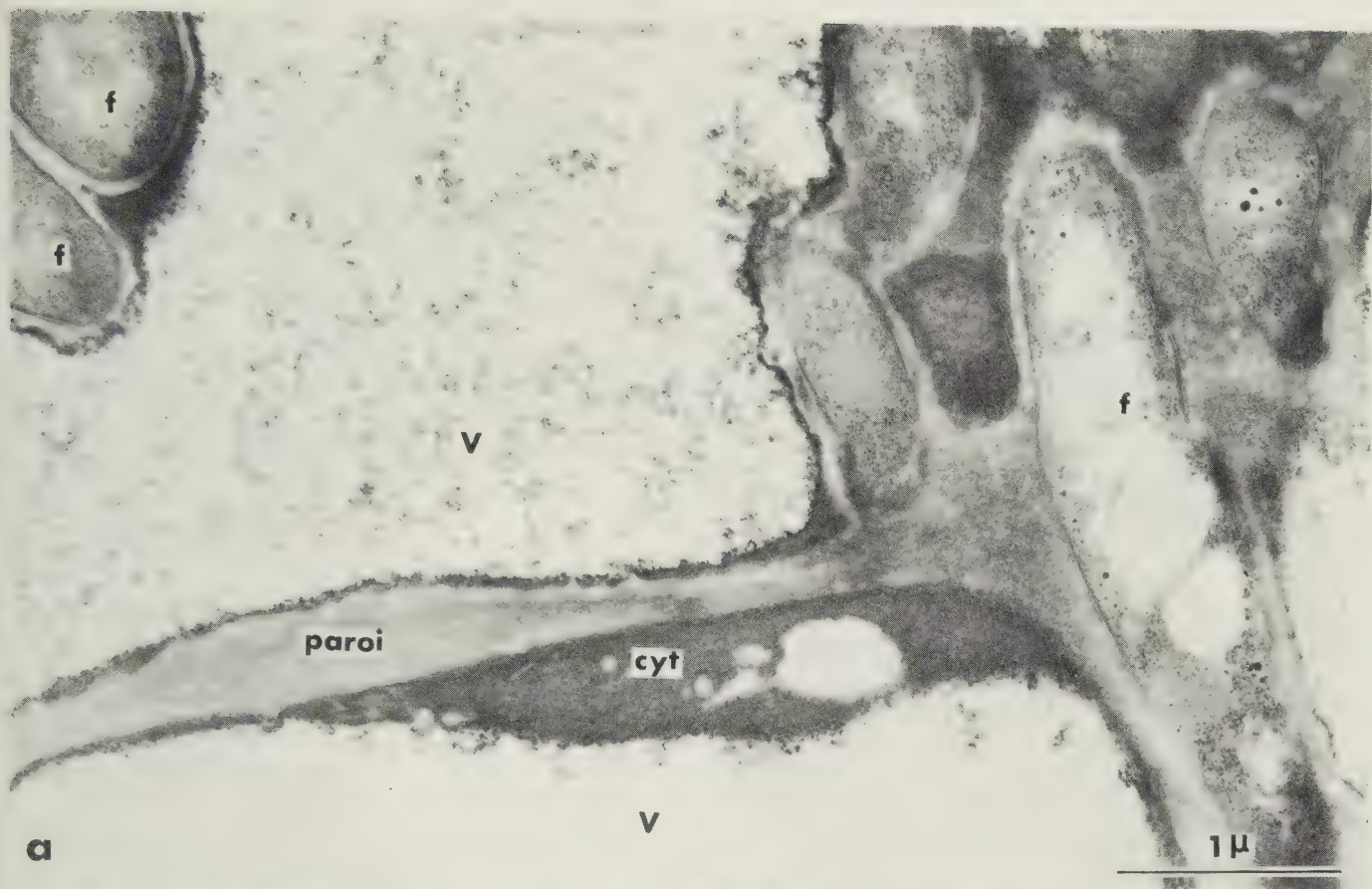
(originaux non publiés)



Dans les nodules de *Myrica gale* L. provenant du marais de Châteauneuf (Ille et Vilaine) nous n'avons observé que des filaments. La figure a illustre le passage d'un filament d'une cellule à une autre. Dans la figure b, une inclusion ponctuée (cr) est visible dans un filament. Les autres constituants des filaments (DNA, ribosomes, septum, mésosomes et parois) sont du même type que ceux rencontrés dans les nodules des deux espèces précédentes, suggérant que l'endophyte de ces nodules est encore un Actinomycète en dépit de l'absence des vésicules et des granules.

f : filament de l'Actinomycète; S : septum; ms : mésosome; m : mitochondrie; V : vacuole de la cellule-hôte; cyt : cytoplasme de la cellule-hôte.

(originaux non publiés)



(résumé des principales conclusions)

RAPPEL de l'importance écologique des nodules de Légumineuses et des *Rhizobium* (d'après les données de la littérature)

- Les nodules racinaires des Légumineuses fixent l'azote atmosphérique et permettent à ces plantes de s'enrichir en protéines.
- Le nodule est un organe original résultant de la symbiose entre une Légumineuse donnée et son *Rhizobium* spécifique.
- L'énergie nécessaire à la réduction de l'azote provient de la photosynthèse réalisée dans les chloroplastes de la plante.

ULTRASTRUCTURE DES *RHIZOBIUM* DANS LES NODULES

I - Dans la première position qu'ils occupent —c'est à dire dans les cordons d'infection— tous les *Rhizobium* se ressemblent. Ils ont la structure de courts bâtonnets possédant les éléments caractéristiques des bactéries gram-négatives : nucléoïde contenant le DNA condensé, ribosomes, membrane plasmique, paroi dont la couche trilaminaire externe est bien visible.

II - Dans la deuxième position qu'ils occupent ultérieurement, c'est à dire dans le cytoplasme des cellules où ils sont entrés par endocytose, les *Rhizobium* montrent des différences qui peuvent être reliées à deux faits biologiques distincts :

1° - Une différenciation diachronique (ou temporelle) correspondant à des étapes successives de développement. Après leurs dernières divisions, les *Rhizobium* augmentent plus ou moins de volume, deviennent capables de fixer l'azote atmosphérique à la suite du processus de différenciation, puis ils meurent en même temps que leurs cellules-hôtes après quelques semaines d'activité fixatrice.

2° - Des différences d'ordre taxonomique concernant d'une part le genre *Rhizobium* et d'autre part les Légumineuses en tant que plantes-hôtes.

a) Les bactéries-bactéroïdes formés dans les nodules des Trèfles (*Trifolium repens*, *T. pratense*, *T. incarnatum*, *T. filiforme*, *T. fragiferum*, *T. squamosum*), des Viciae (*Vicia sativa*, *V. hirsuta*, *Lathyrus tuberosus*, *Pisum sativum*), des Luzernes (*Medicago sativa*, *M. maculata*, *M. minima*, *M. lupulina*), d'*Anthyllis vulneraria*, *Ononis repens*, *Lotus corniculatus*, *Astragalus bayonensis*, *Robinia pseudoacacia*, et *Phaseolus vulgaris* ont un nucléoïde clair et dispersé.

Les bactéries-bactéroïdes formés dans les nodules d'*Albizzia lophanta*, *Mimosa pudica*, *Lotus uliginosus*, *Ornithopus perpusillus*, *Ulex europeus*, *Sarothamnus scoparius*, *Genista anglica*, *Spartium junceum*, *Cytisus* sp. *Glycine max*, *Lupinus angustifolius*, *Cajanus cajan*, *Centrosema pubescens* et *Arachis hypogea*, ont un nucléoïde condensé, dense aux électrons et montrant très souvent des globules de polyphosphates.

En tenant compte des données de la littérature, en particulier des travaux de Norris (1965), on constate que le nucléoïde clair et dispersé s'observe dans les bactéries-bactéroïdes des nodules de Légumineuses qui contiennent habituellement des *Rhizobium* à croissance rapide, alors que le nucléoïde condensé souvent accompagné de globules de polyphosphates et parfois structuré en pseudomorphose cholestérique, s'observe dans les bactéries-bactéroïdes des nodules qui abritent ordinairement des *Rhizobium* à croissance lente. Cultivés *in vitro* ces deux groupes de *Rhizobium* sont, en plus, distincts par de nombreux caractères structuraux et biochimiques (voir discussion). Ceci suggère que les différences constatées dans la différenciation des *Rhizobium* à l'intérieur des nodules doivent être imputées à l'expression du génome de la bactérie plutôt qu'à celui de la plante-hôte. De plus cette évolution différente des nucléoïdes s'ajoute aux critères distinctifs déjà reconnus entre les deux groupes de *Rhizobium* (R-rapides-acidifiants et R-lents-non acidifiants).

b) Les changements de forme et de taille des *Rhizobium* devenus fixateurs dans la zone rouge des nodules, varient beaucoup d'un groupe de Légumineuses à l'autre. Il peut se former des bactéroïdes ayant une forme caractéristique pour un même groupe d'inoculation. Ainsi les bactéroïdes passent par un stade piriforme chez les Trèfles, en Y chez les *Viciae*, en massue chez les Luzernes, en sphère chez *Arachis hypogea*, en sphérules chez des espèces appartenant aux genres *Anthyllis*, *Ononis*, *Astragalus* et *Lotus*, en filament recourbé toruleux chez les Ajoncs et les Genêts. Ces données devraient permettre de compléter la classification proposée par Fred, Baldwin et McCoy (1932).

c) Dans les bactéroïdes gonflés et volumineux (Trèfles, *Viciae*, Arachide) la membrane plasmique s'invagine en un système vésiculaire portant ou enclavant des cytochromes qui ont été détectés cytochimiquement par l'utilisation de la diamino-benzidine (DAB) à pH 6.

d) Enfin, les bactéroïdes des Trèfles et des *Viciae* montrent souvent des amas granuleux au niveau de leurs nucléoïdes.

Les nodules ne sont pas des racines modifiées mais des organes originaux (qui résultent d'interactions complexes entre le programme génétique du *Rhizobium* et celui de la légumineuse).

Tous les nodules de légumineuses se ressemblent sur les points suivants :

- la manière dont les cellules sont infectées (formation des cordons d'infection et ensuite endocytose)

- l'origine histologique des cellules-hôtes (parenchyme cortical)

- la structure caractéristique des cellules-hôtes (plastides et mitochondries sé-grégés sur le pourtour des cellules et en particulier en face des méats alors que les *Rhizobium* envahissent le cytoplasme restant autour du noyau et de la vacuole centrale.

- la structure des faisceaux conducteurs du nodule (présence des cellules trans-fert dans l'assise pérycclique)

- la séquence d'événements qui suit la libération des *Rhizobium* dans les cellules-hôtes (multiplication, différenciation dans les cellules rouges, sénescence concomitante des symbiotes et des cellules-hôtes à partir de la base des nodules)

- la formation de la leghémoglobine dans l'espace vacuolaire autour des bactéries différenciées ou des bactéroïdes de la zone rouge. Cette leghémoglobine a été détectée par sa densité aux électrons et par sa fonction peroxydasique mise en évidence par la réaction à la diamino benzidine (DAB) à pH 8 ou pH 9.

Au point de vue taxonomique, cette uniformité de structure et de fonctionne-ment suggère de maintenir un genre unique *Rhizobium*.

AUTRES RELATIONS MISES EN EVIDENCE DANS CERTAINS NODULES DE LEGUMINEUSES

- Des inclusions vacuolaires à structure de cristaux-liquides cholestériques ont été observées dans des cellules non-infectées du tissu central d'un nodule de *Vicia hirsuta* L.

- Des anomalies (ségrégation et cristallisation des ribosomes) ont été constatées dans les bactéroïdes des nodules de *Vicia sativa* L. qui étaient infectés par un virus en filament flexueux (Flexiviridales)

- Une dégénérescence prématurée de certains bactéroïdes a été constatée dans des nodules blanchâtres de *Trifolium repens* L. dont le phloème était contaminé par des mycoplasmes phytopathogènes.

(résumé des principales conclusions)

*RAPPEL de l'importance écologique des nodules racinaires à Actinomycètes
(d'après les données de la littérature)*

Des Actinomycètes sont impliqués dans la formation des nodules racinaires fixateurs d'azote, chez une quinzaine de genres de Plantes appartenant à différentes familles de non-Légumineuses.

Dans cette symbiose l'énergie nécessaire à la fixation d'azote provient de la photosynthèse des plantes-hôtes.

ULTRASTRUCTURE DES ACTINOMYCETES DANS LES NODULES

Dans le cas le plus complet, constitué par les nodules d'*Alnus glutinosa*, l'Actinomycète se reconnaît par ses cellules procaryotiques à paroi d'abord Gram-positive et formant successivement plusieurs types d'agrégats cellulaires désignés sous les noms de filaments, vésicules et granules. La nature procaryotique des cellules est évidente à l'observation du DNA condensé (et coagulé par les manipulations de préparation) et la présence de ribosomes non séparés du DNA condensé par une membrane. Les filaments représentent la forme de colonisation et de prolifération dans le nodule. Les vésicules se forment au bout de filaments dont l'extrémité se renfle et se cloisonne. Les granules qui sont des cellules isolées et équivalent à des spores de résistance et de dissémination, apparaissent d'abord au centre de l'amas de prolifération de l'Actinomycète dans une cellule de la plante-hôte. Ces granules se forment par élargissement et cloisonnement des filaments puis par dissociation de l'ensemble prégranulaire ainsi formé. Les cellules des filaments et des vésicules sont limitées par une membrane plasmique et la couche de mucopeptide constituant la paroi. Cette structure de la paroi ainsi que la présence très fréquente de mésosomes et la forme des cloisons de division sont typiques de bactéries Gram-positives. Les granules sont, eux, limités par une membrane plasmique, une épaisse couche de mucopeptide et un revêtement externe formé de profils membranaires vraisemblablement de nature lipidique. Ces constituants confèrent sans doute aux granules une réaction Gram-négative, caractéristique des Actinomycétales en fin de cycle.

Dans le cas du *Myrica gale* qui a été étudié, seul le stade filamenteux de prolifération a été observé, tandis que *Hippophaë rhamnoides* a montré à la fois le stade filamenteux et des vésicules arrondies mais pas de granules. Aussi, l'échantillon des 3 espèces étudiées n'a pas été jugé suffisant pour établir une comparaison significative de leurs nodules.

RAPPORTS AVEC LES CELLULES-HOTES

L'Actinomycète est toujours séparé du cytoplasme de la plante-hôte par la paroi cellulosique et le plasmalemme de la cellule envahie.

La prolifération de l'Actinomycète se manifeste au niveau de la cellule-hôte par un développement considérable de son noyau activé (augmentation du volume, présence d'un très gros nucléole, extension de la zone euchromatinienne) et par des modifications concernant les plastides (déformations, disparition des grains d'amidon, apparition d'un réseau et de nappes membranaires dans le stroma). Le reticulum endoplasmique et le nombre des ribosomes sont aussi en accroissement. La disposition relative des constituants cellulaires est modifiée.

La croissance de l'Actinomycète correspond donc à une activation de la cellule-hôte. Le parallélisme existe également en fin de développement, puisqu'au moment où l'Actinomycète achève son cycle, il y a aussi destruction des cellules-hôtes.

DISCUSSION

Dans cette discussion sur les nodules racinaires fixateurs d'azote, nous utiliserons le plan suivant :

A - NODULES DES LEGUMINEUSES	p. 156
I - DYNAMIQUE DE L'INFECTION DES CELLULES	156
II- STRUCTURE DES CELLULES FIXATRICES DE LA ZONE ROUGE	157
III- LOCALISATION DES HEMOPROTEINES PAR LA DIAMINOBENZIDINE (DAB)....	159
1°) La leghémoglobine	159
2°) Les cytochromes	159
IV- NUCLEOIDES DES BACTERIES-BACTEROIDES	162
1°) Les corps granuleux	162
2°) Les globules de polyphosphates	163
3°) La structure physique du nucléoïde condensé des <i>Rhizobium</i> à croissance lente	163
4°) Réflexions sur la signification du nucléoïde bactérien en général...	165
5°) Application aux <i>Rhizobium</i> ; intérêt taxonomique	167
V - FORME DES BACTERIES-BACTEROIDES; INTERET TAXONOMIQUE	169
B - NODULES A ACTINOMYCETES	173
I- STRUCTURE COMPAREE DES NODULES ETUDIES	173
II- COMPARAISON AVEC LES NODULES DES LEGUMINEUSES	174

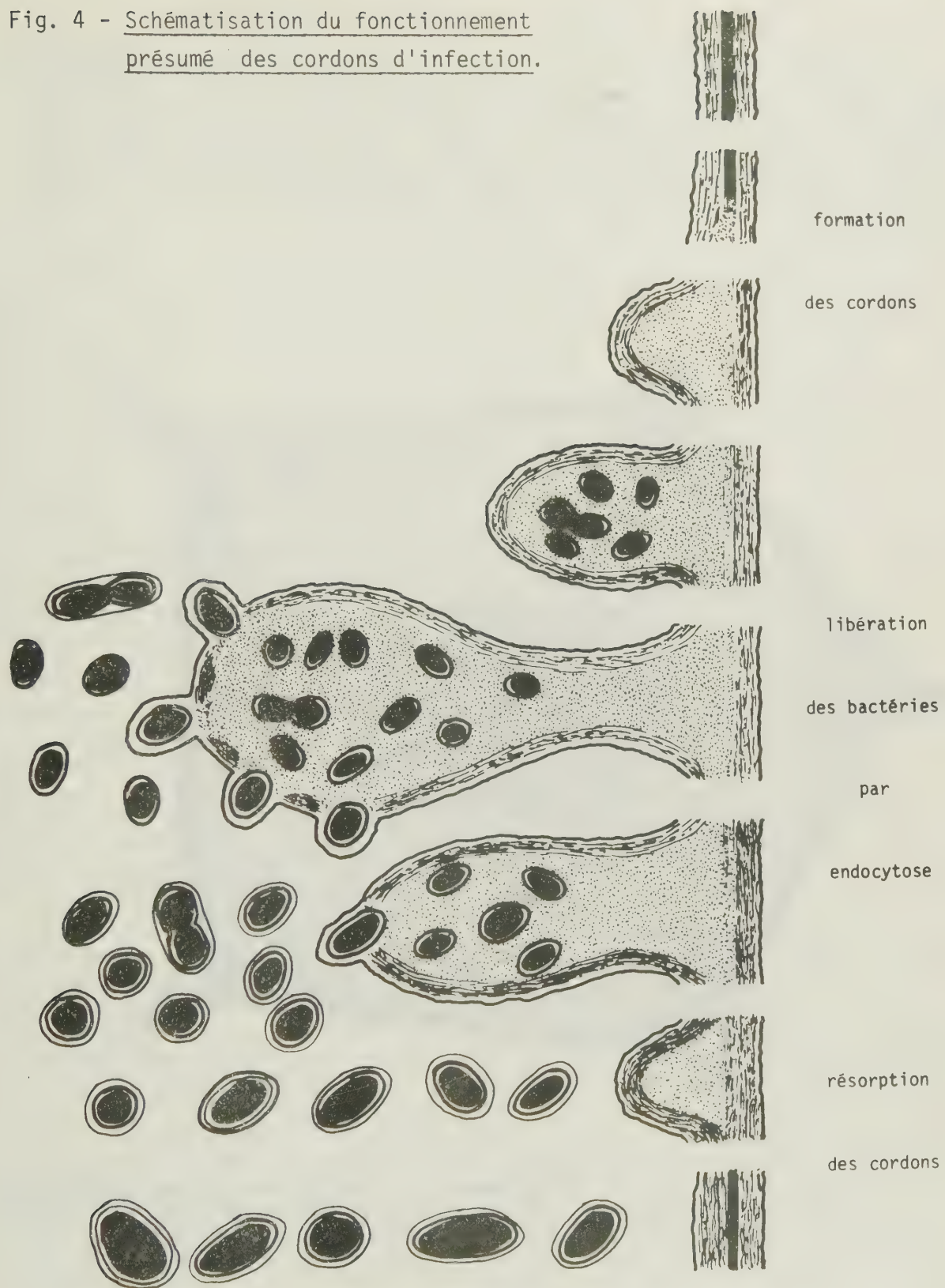
I - LA DYNAMIQUE DE L'INFECTION DES CELLULES

Tous les nodules de légumineuses que nous avons examinés présentent entre eux de grandes ressemblances. Il semble donc que l'on puisse tirer une interprétation générale du mécanisme d'infection des cellules et du mode de développement ultérieur des nodules.

Une fois qu'un nodule est initié sur une racine, le développement du tissu rouge résulte de deux phénomènes : l'augmentation du nombre de cellules infectées et leur accroissement en volume. Par ailleurs, dans la plupart des nodules (excepté peut-être les nodules d'arachide), il existe une zone riche en cordons d'infection en arrière de l'apex méristématique. Cette zone qui se maintient au cours de l'accroissement de la nodosité -tout en se déplaçant- perpétue une population de bactéries en position extracellulaire. Les images forcément statiques du matériel fixé ne doivent pas nous masquer le fait qu'il s'agit d'un processus dynamique bien que celui-ci ait certaines caractéristiques d'un état stationnaire. Proposons un modèle. Pour que la zone d'infection se déplace, il faut admettre que des cordons apparaissent dans des cellules du côté de l'apex et que d'autres se résorbent plus en arrière après avoir expulsé leurs bactéries. Le phénomène doit se faire en quatre temps. 1er temps : invagination de l'ensemble plasmalemme-paroi cellulosique, entourant partiellement du mucilage avec des bactéries qui se multiplient. 2ème temps : amincissement de la couche cellulosique allant jusqu'à sa rupture et donc possibilité pour le mucilage et les bactéries de s'extruder en boursouflures limitées seulement par le plasmalemme. 3ème temps : départ des bactéries du mucilage et invagination du plasmalemme qui, d'une part, englobe individuellement chaque bactérie dans une vacuole d'endocytose et d'autre part se referme sur le mucilage. 4ème temps : les bords disjoints de la couche cellulosique se rejoignent, la paroi se reforme, le cordon se résorbe.

Ce modèle précise la conception de Bergersen et Briggs (1958) que Goodchild et Bergersen (1966) ont proposé d'appeler endocytose et dont la réalité semble bien vérifiée par les clichés très convaincants de Dixon (1967). Il invalide les conceptions de Dart et Mercer (1963) ou de Jordan, Grinyer et Coulter (1963) qui ne tiennent pas compte de la règle de biologie cellulaire qui constate que, sauf cas pathologique ou altération expérimentale, toute membrane est continue et fermée sur elle-même. Plutôt qu'une libération par éclatement des extrémités des cordons, le rôle actif pourrait être cherché dans des modifications de la membrane cytoplasmique entourant les cordons d'infection et dont la concavité changerait de sens en enclavant une bactérie. Cette portion de plasmalemme aurait une constitution particulière résultant de l'interaction *Rhizobium*-légumineuse. Cette modification servirait ultérieurement aux échanges physiologiques entre les bactéroïdes et la plante. Un rôle actif des bactéries des cordons a également été envisagé par Truchet (1973).

Fig. 4 - Schématisation du fonctionnement
présumé des cordons d'infection.



II - LA STRUCTURE DES CELLULES FIXATRICES DE LA ZONE ROUGE

Dans tous les nodules que nous avons étudiés, les cellules infectées de la zone rouge montrent une disposition constante de leurs organites. La vacuole, très généralement unique et plutôt petite, est en position centrale. Le noyau, en forme de calotte, est appliqué contre elle. Dans les cas où il existe deux vacuoles (occasionnellement chez *Robinia pseudoacacia*) le noyau est appliqué contre l'une d'elle ou bien enserré entre les deux vacuoles. La majeure partie du cytoplasme est occupée par les bactéries-bactéroïdes.

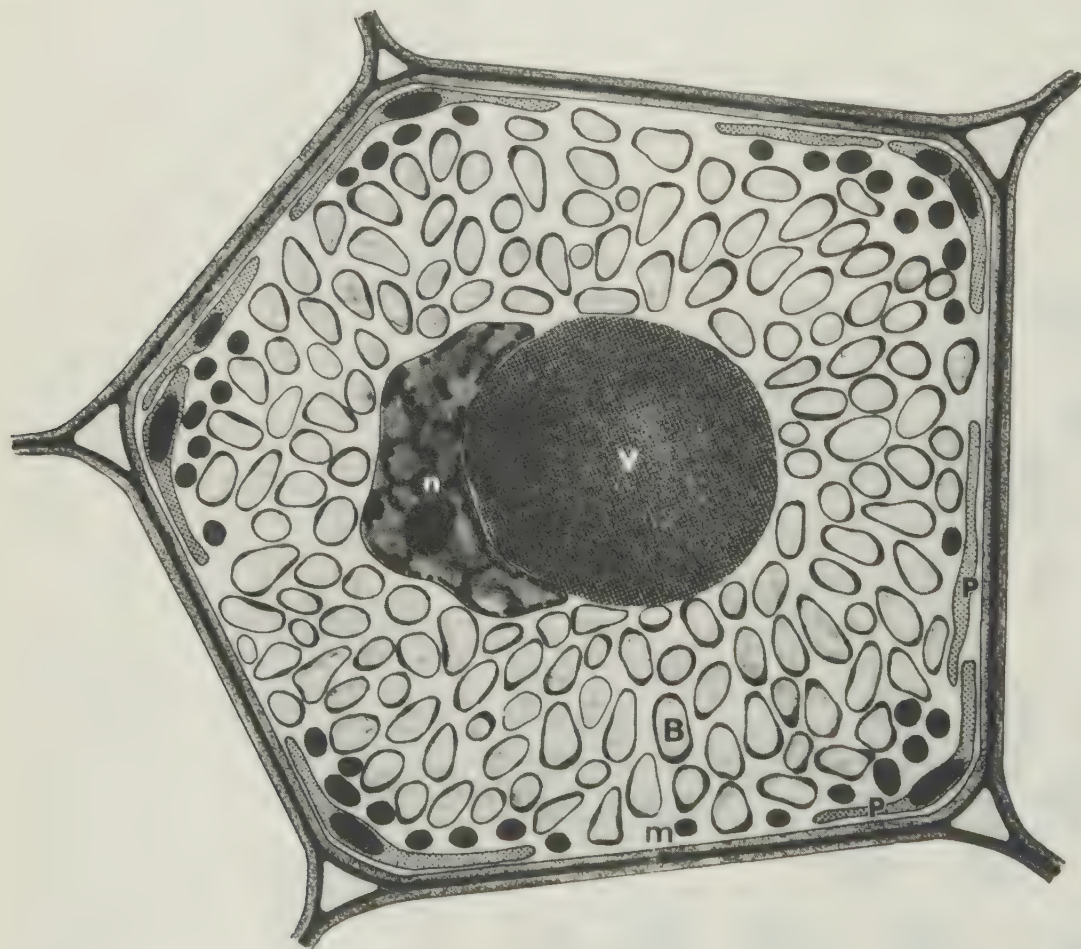


Fig. 5 - Schéma d'une cellule infectée de la zone rouge des nodules de *Trifolium repens* L. m : mitochondrie; p : plaste; B : bactéroïde; n : noyau; v : vacuole.

Dans le cas où les nodules contiennent des bactéries fixes très allongées (bactéroïdes du groupe *meliloti* en général), ceux-ci sont disposés radialement dans la cellule. Ainsi dans le cas de *Valeriana officinalis*, caractérisé par la grande taille des bactéroïdes, chaque cellule du tissu rouge était formée d'une seule couche de bactéroïdes disposés suivant des rayons. Mais c'est encore la position du plastidome et du chondriome qui constitue le fait le plus remarquable.

Les plastes, plus ou moins riches en amidon, sont toujours appliqués sur le pourtour de la cellule contre le plasmatome végétal. Ils sont surtout abondants en face des méats. Le chondriome est interne au plastidome et les bactéroïdes, et les mitochondries sont toujours plus nombreuses en face des méats. La position périphérique des plastes et des mitochondries avait déjà été notée par plusieurs auteurs (Dangeard, 1926; Mosse, 1964; Goudchuld et Bergersen, 1966; Truchet, 1970). Elle soulève un intéressant problème de biophysique surtout lorsque l'on rapproche ces données des résultats obtenus par Bouck (1963) après centrifugation de racines de pois. Dans ces racines en culture soumises à une gravitation de 20 000 g pendant 24 h, les organites adoptent une position d'équilibre dans la cellule en fonction de leur densité propre. Les plastes à amidon, le reticulum granulaire, le nucléole sont les plus denses; puis viennent les mitochondries et les plastes sans amidon. La vacuole est un constituant léger. Si l'on admet que dans les deux cas (racine de pois et nodule), les organites ont des densités équivalentes, on peut dire que les cellules de la zone III ont réalisé une centrifugation différentielle des plastes et des mitochondries selon un gradient radiaire de densité! La vacuole, constituant léger, est au centre; les plastes amylofères constituants les plus denses sont les plus éloignés du centre. Pourquoi cependant le plastidome et le chondriome sont-ils les plus fournis en face des méats? Est-ce parce que ces points sont les plus éloignés du centre (géométrique) de la cellule, ou bien la membrane, la paroi ou le cytoplasme ont-ils des propriétés particulières à cet endroit? On doit rapprocher de ceci les observations de Davey et coll. (1973) qui -ayant obtenu des protoplastes à partir des cellules rouges du nodule de soja- constatent que ces protoplastes conservent leur forme originale allongée et anguleuse, alors que dans tous les autres cas, ces protoplastes ont tendance à prendre une forme sphérique. Ceci tendrait à montrer qu'il se produit à l'intérieur de ces cellules rouges du nodule, un phénomène physique qui stabilise leur structure.

Qu'elle est la signification physiologique de cette disposition? L'air qui diffuse à partir des méats est d'abord en contact avec la couche pectique au niveau de laquelle nous avons décelé une intense activité peroxydasique. La tension d'oxygène est évidemment plus forte à la périphérie des cellules qu'au niveau des bactéroïdes. Le fait que le chondriome soit proche des plastes à amidon et des méats, pourrait être lié à l'utilisation, par la plante, des sucres provenant de sa propre photosynthèse. L'oxygène étant un facteur limitant ceci expliquerait le rôle diffusif joué par la leghémoglobine (Yocum, 1964; Bergersen, 1971, 1974). Notons qu'une disposition périphérique du plastidome se rencontre aussi dans les cellules des parenchymes chlorophylliens et chez les algues. La cellule fixatrice d'azote du nodule de légumineuse et la cellule photosynthétisante qui, toutes deux, métabolisent des gaz de l'atmosphère, auraient ainsi des caractéristiques structurales communes lorsqu'elles sont devenues fonctionnelles. Il y a là un intéressant problème physique lié aux phénomènes de différenciation cellulaire.

III - LOCALISATION DES HEMOPROTEINES PAR LA DIAMINOBENZIDINE (DAB)

1°) La leghémoglobine.

La substance dense aux électrons que l'on observe parfois dans l'espace vacuolaire entourant les bactéries-bactéroïdes, réagit positivement à la DAB aux pH alcalins (pH 8 et pH 9), mais pas à pH 6. Elle agit donc avec ce réactif comme la myoglobine (Simionescu et coll., 1973). Or des analyses physiques et chimiques montrent que la myoglobine et la leghémoglobine se ressemblent (Ellfolk, 1972). Comme la leghémoglobine possède *in vitro* une fonction peroxydasique (Smith, 1949) et que les conditions d'incubation optimales préconisées par Novikoff (1969, 1970), pour révéler cytochimiquement une telle fonction, ont été réalisées, il y a tout lieu de croire que la substance ainsi détectée est bien la leghémoglobine. D'autres arguments corroborent cette proposition. Ainsi il y a la correspondance histologique entre la couleur rouge des cellules infectées de la zone III et la détection cytochimique ultrastructurale de cette substance. De plus, sa localisation dans l'espace vacuolaire où baigne chaque bactéroïde est en bon accord avec la conception actuelle que l'on a du rôle physiologique de la leghémoglobine (Yocum, 1964; Bergersen, 1971, 1974; Appleby, 1974).

La localisation de la leghémoglobine a été controversée, en raison d'un échec de Dart (1968) qui cherchait à la mettre en évidence au moyen de la diaminobenzidine dans les nodules du soja. Les difficultés que nous avons nous-mêmes rencontrées, nous incitent à croire que la détection de la leghémoglobine par la DAB n'est régulièrement positive que dans les cas où une substance dense aux électrons est déjà visible dans l'espace vacuolaire, sur des coupes contrastées mais non incubées. D'autres résultats positifs ont été obtenus par Truchet (1972) pour les nodules du pois et par Bergersen et Goodchild (1973), pour les nodules de soja.

Comme la technique à la DAB met en évidence des hémoprotéines, elle doit corroborer les résultats d'incorporation de fer radioactif. Nos résultats s'accordent très bien avec ceux de Dilworth et Kidby (1968) qui utilisent le ^{59}Fe . Ils notent : a) un maximum de marquage sur la paroi des bactéroïdes; b) un pic à $0,2 \mu$ pouvant correspondre à la distance modale qui sépare les vésicules (rares chez *R. japonicum*) de la paroi du bactéroïde.

Cette localisation du fer qui concorde avec la répartition des hémoprotéines détectées à la DAB, correspond également aux résultats de dosages biochimiques obtenus après fractionnement : en les lavant, la leghémoglobine extérieure aux bactéroïdes peut être éliminée (Appleby, 1969); par contre, à l'intérieur des bactéroïdes se trouvent les cytochromes b et c ainsi que les hémoprotéines P-420, P-428 et P-450 (Appleby, 1969).

2°) Les cytochromes.

Les premières observations de membranes à l'intérieur des bactéroïdes ont été réalisées par Dart et Mercer (1963) pour des bactéroïdes de *Rhizobium trifolii*. Suivant la fixation qu'ils utilisent -permanganate de potassium ou osmium- ces auteurs observent deux dispositions différentes des membranes : dans le cas des fixations au permanganate, les bactéroïdes montrent différents profils recourbés de membranes accolées, alors que dans le cas de la fixation

osmiée, ils observent de nombreuses vésicules dispersées sur le pourtour des bactéroïdes. Ils accordent peu d'importance à cette dernière observation et privilégient la première. Nous pensons que cette position est erronée. En effet, dans certaines fixations que nous estimons être mauvaises (décollement du plasmalemma et vésiculisation de certaines membranes) nous avons obtenu des résultats analogues à ceux de Dart et Mercer. Les lamelles enroulées sont vraisemblablement un artefact puisque cette disposition n'est pas reproductible par une technique standard donnant une bonne fixation. Néanmoins, ces images montrent clairement la nature membranaire des constituants ainsi décelés et leur continuité avec la membrane plasmique. Nous pensons que la forme naturelle du système membranaire des bactéroïdes est constituée par des vésicules sphériques ou ovales communiquant entre elles et avec l'espace périplasmique.

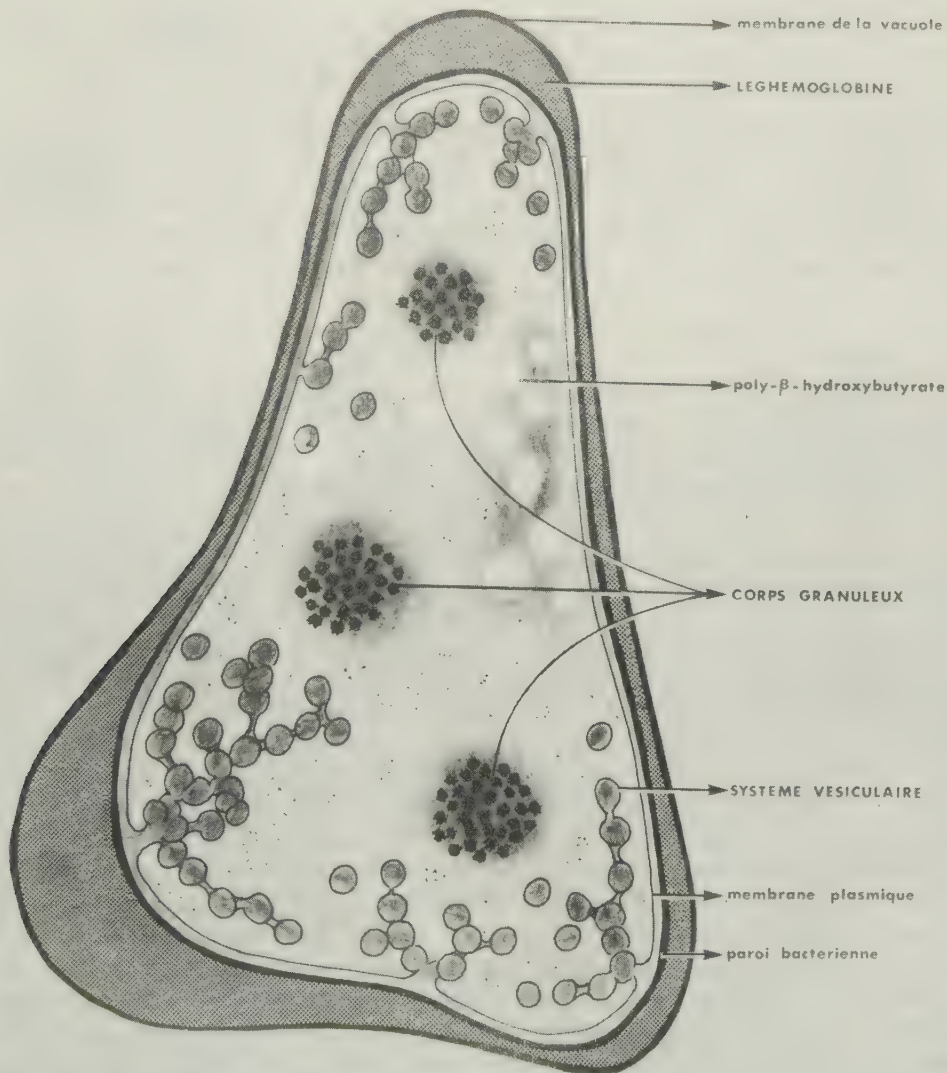


Fig 6 .- Schéma d'un bactéroïde de *Rhizobium trifolii*

Les vésicules sont difficiles à voir sur les coupes contrastées à l'acétate d'uranyle et au citrate de plomb, mais elles apparaissent très distinctement après incubation par la diaminobenzidine à pH 6. Après incubation aux pH 8 ou pH 9, leur contraste semble être plus faible. Il est difficile d'attribuer ces réactions positives à une (ou des) enzyme(s) bien déterminée(s). En effet, l'oxydation de la DAB n'est pas interprétée de la même façon pour un même matériel suivant les différents auteurs. Ainsi pour les mitochondries, Seligman et coll. (1968) pensent que la DAB réagit avec le cytochrome c, tout en permettant de détecter la cytochrome-oxydase (Fig. 7). Par contre, Keyhani (1972) pense que dans ses conditions d'expériences "c'est l'interaction entre le DAB et la cytochrome oxydase qui est responsable de la positivité de la réaction".

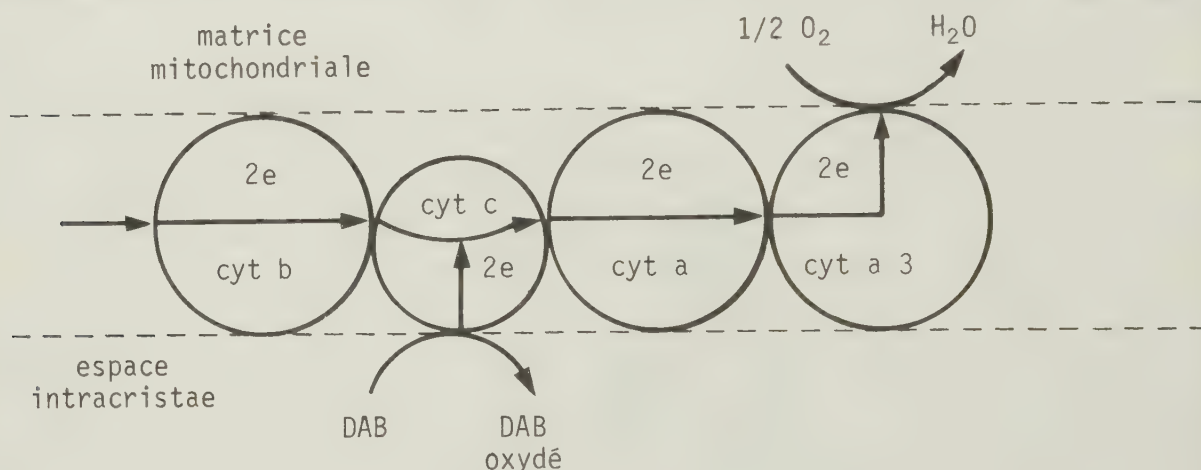


Fig. 7 - Schéma simplifié de l'interprétation que Seligman et coll. (1968), donnent de la réaction à la DAB permettant la détection de l'activité cytochrome-oxydasique de la membrane mitochondriale interne.

Une autre difficulté réside dans le fait que les bactéries-bactéroïdes contiennent de multiples hémoprotéines (Appleby, 1969, 1974). Nous pensons néanmoins, que la réaction positive à pH 6 révèle, sinon le cytochrome terminal d'une chaîne d'oxydoréduction, du moins l'existence d'une telle chaîne associée à la membrane plasmique et au système vésiculaire qui en dérive.

La formation du système vésiculaire des bactéroïdes peut être considérée comme un accroissement considérable de la surface utile de membrane plasmique. Les vésicules sont d'autant plus nombreuses que les bactéroïdes sont volumineux et globuleux. Le cas des bactéroïdes des trèfles est typique à cet égard (et nous mesurons rétrospectivement la chance que nous avons eue de travailler d'abord sur ce matériel là). Ces vésicules existent aussi, mais en moindre quantité, dans les bactéroïdes de *R. leguminosarum*, *R. meliloti*, *R. torulosum* et dans les bactéroïdes de l'arachide où elles ont aussi été signalées par Aufeuvre (1973). On peut donc mettre en évidence une sorte de relation biométrique entre leur degré de développement et l'accroissement en volume des bactéroïdes. Il est à ce propos intéressant de noter qu'*Azotobacter*, autre *Rhizobiaceae* fixatrice d'azote, et qui est remarquable par la grande taille de ses cellules, possède également un système buissonnant de membranes internes vésiculeuses (Pate et coll., 1973; Oppenheim et Marcus, 1970).

Comme ce système semble jouer un rôle essentiel dans la respiration et la fourniture des ATP (nécessaires pour la fixation de l'azote, Moulder et Brotonegoro, 1974), il vient évidemment à l'esprit l'idée que ces membranes doivent porter ou enclaver les cytochromes de la chaîne d'oxydo-réduction. Une comparaison avec la compartimentation des mitochondries pourrait donc être riche d'enseignement. Signalons à ce propos qu'en utilisant le vert Janus B, le réactif de Nadi ou le chlorure de triphényltétrazolium, Bergersen (1955) avait montré l'existence dans les bactéroïdes d'un trèfle, de territoires réalisant une oxydo-réduction analogue à celle que produit une mitochondrie (d'où le nom de "mitochondria-like granule" donné à ces structures). Il s'agit très vraisemblablement des "buissons" de vésicules tels que nous les observons par l'utilisation de la DAB à pH 6 ou bien dans l'observation directe des bactéroïdes au microscope électronique (Pl. 42, fig. b).

IV - LES NUCLEOIDES DES BACTERIES-BACTEROIDES

Comme le montrent les planches photographiques qui illustrent la structure des bactéries et bactéroïdes, des nodules de légumineuses, nos résultats corroborent l'idée d'une distinction nette entre le groupe des *Rhizobium* à croissance lente (en abrégé R-lents), et le groupe des *Rhizobium* à croissance rapide (en abrégé R-rapides). L'existence de ces deux groupes avait été avancée dès le début du siècle par Hiltner et Störmer (1903), puis développée par Burrill et Hansen (1917), Shunk (1921), Löhnis et Hansen (1921). Ces auteurs constataient en effet qu'en plus de la vitesse de croissance, les deux groupes se distinguent par des caractères culturels et le type de flagellation (production d'acide et flagellation péritriche pour les R-rapides; pas de production d'acide et flagellation monotriche pour les R-lents). La détermination du pourcentage de (G + C) par De Ley et Rassel (1965), l'analyse des protéines par Peterson et coll. (1971) ainsi que l'étude des polysaccharides extracellulaires par Bailey et coll. (1971) montrent également que les deux groupes sont différents pour tous ces caractères. Norris (1965) insiste sur la production d'acide par l'un des groupes et constate des corrélations avec des données botaniques (systématique des légumineuses, pédo-logie et géobotanique). D'autre part, Graham (1964) ainsi que Moffett et Colwell (1967), utilisant l'ordinateur pour réaliser une taxonomie numérique des *Rhizobium* et des genres voisins, constatent que les R-lents-non-acidifiants et les R-rapides-acidifiants constituent deux taxons distincts.

En tenant compte de ces informations, nous allons discuter maintenant les principales implications qui découlent de nos observations sur les nucléoïdes.

1°) Les corps granuleux.

De l'étude comparée des nodules des légumineuses appartenant aux différents groupes, il ressort que ces corps granuleux s'observent toujours dans les bactéroïdes des trèfles, avec une fréquence moyenne chez les *Viciae* et une fréquence très faible chez les luzernes. Le nombre de granules augmente au cours de la croissance du bactéroïde. La fréquence et la taille des corps granuleux observés dans ces groupes semblent donc liées au degré de gonflement des bactéroïdes :

plus le bactéroïde s'hypertrophie et s'élargit, plus le nombre de granules est élevé. Inversement, on pourrait dire que tout se passe comme si les granules n'apparaissaient pas à moins d'une certaine distance de la paroi des bactéroïdes, tout au moins lorsque ceux-ci ne sont pas altérés au cours de la fixation; (en effet, dans certaines mauvaises fixations, nous avons constaté leur présence à proximité de la surface du bactéroïde alors que dans les bonnes fixations ils se trouvent plus à l'intérieur).

La nature et la signification de ces corps granuleux demeurent énigmatiques. Leur ressemblance avec certains corps nucléaires fréquents dans les noyaux des cellules végétales méristématiques pourrait peut-être fournir une voie d'approche à leur étude. Ils ne semblent pas avoir été signalés dans la littérature mais ils pourraient correspondre par leur nombre, leur forme, leur taille, leur position et leur colorabilité, aux corpuscules chromatiques signalés par Dangeard (1926) dans les bactéroïdes de *Rhizobium trifolii* colorés à l'hématoxyline. Ils pourraient également expliquer certains résultats obtenus par Chizhik (1959), en ce qui concerne l'évolution du nucléoïde des bactéroïdes.

2°) Les globules de polyphosphates.

Les globules que nous avons observés au niveau du nucléoïde de certains bactéroïdes (ou des bactéries différenciées) sont denses aux électrons et méta-chromatiques en microscopie photonique, après coloration par le bleu de toluidine. L'éclaircissement de leur centre sous l'énergie du faisceau d'électrons est également caractéristique. Par analogie avec les résultats d'autres auteurs (Craig et Greenwood, 1972; Craig et coll., 1973; Fuhs, 1973; Shively, 1974) nous pensons qu'ils contiennent des polyphosphates. Comme le signalent Craig et Greenwood (1972), des globules similaires sont apparents dans les clichés de Bergersen et Briggs (1958), Jordan et Grinyer (1965), Kidby et Goodchild (1966), Dart et Mercer (1966). Prasad et Deepesh les notent aussi dans des nodosités de *Phaseolus mungo* (1971) ainsi que Aueuvre dans les nodosités de l'Arachide (1973). D'après tous ces travaux et nos propres observations, il semble donc que les globules de polyphosphates se rencontrent seulement au niveau du nucléoïde condensé des *Rhizobium* à croissance lente. Néanmoins il est probable que les bactéries-bactéroïdes des *Rhizobium* à croissance rapide puissent également en contenir de très faibles quantités s'ils se trouvent placés dans des conditions défavorables.

3°) Structure physique du nucléoïde condensé.

On admet généralement que les meilleures fixations du nucléoïde bactérien sont celles qui produisent un minimum de coagulation du DNA et permettent d'observer des fibres dont le diamètre approche autant que possible la valeur de 20 Å. C'est la méthode de Ryter-Kellenberger qui est jugée la plus satisfaisante par la plupart des auteurs. Aussi est-il assez surprenant de constater qu'une texture finement fibreuse est obtenue ici après utilisation du glutaraldéhyde suivie d'une postfixation à l'osmium. Cependant, Zusman et coll. (1973), avaient déjà obtenu un résultat analogue en utilisant comme nous, la double fixation glutaraldéhyde-osmium pour le nucléoïde d'une souche mutante d'*Escherichia coli*. De même Ciampor et coll. (1972) constatent que les cellules de *Coxiella burnetii* de la phase II, ont un nucléoïde fibreux après la double fixation, alors que celle-ci coagule davantage le nucléoïde des cellules de la phase I.

D'autre part, la fixation des chromosomes de Péridiniens donne des résultats à peu près identiques, que l'on utilise la fixation de Ryter et Kellenberger, ou la double fixation glutaraldéhyde-osmium. Dans tous ces cas, il est donc vraisemblable que le gel de DNA nu (non associé à des histones), était assez bien stabilisé dès le départ avant même la fixation.

Les photographies des planches 34 et 35 rendent assez évidente la ressemblance de certains nucléoïdes avec des chromosomes de Péridiniens. C'est Giesbrecht (1961, 1962, 1965, 1966), qui avait le premier illustré ce type d'analogie, entre nucléoïdes de Procaryotes et chromosomes d'Eucaryotes. Depuis lors d'autres travaux permettent d'observer la même disposition du DNA dans plusieurs matériels biologiques. C'est par exemple le cas du nucléoïde condensé d'*E. coli* décrit par Zusman et coll. (1973) ainsi que le nucléoïde mitochondrial (kinétoplaste) de *Trypanosoma cruzi* à un stade d'action d'une faible concentration de bromure d'éthidium, tel qu'il est signalé par Delain et Riou (1969). Mais ce sont surtout les chromosomes de Péridiniens qui ont servi de matériel d'étude pour tenter d'interpréter cette configuration particulière du DNA. Giesbrecht a fondé son modèle sur l'existence d'un chromonema en super-hélice ("supercoiling") (1961). Cette interprétation a été reprise par Grund (1965) et reformulée sous le nom de "loop-helix-system" faisant intervenir une spiralisation mineure et un système majeur (Grund, 1974). Une autre interprétation a été donnée par Grassé et coll. (1965 a et b). Cependant, tous ces modèles ne s'accordent pas avec un nombre suffisant de faits d'observation pour pouvoir être retenus; leur valeur prédictive s'est révélée peu intéressante.

Une interprétation beaucoup plus appropriée a été fournie par Bouligand (Bouligand, 1965, 1966; Bouligand et Puiseux-Dao, 1966; Bouligand, Soyer et Puiseux-Dao, 1968; Bouligand, 1972). Celle-ci repose d'une part sur la physique des cristaux-liquides et d'autre part sur l'analogie structurale en microscopie électronique des chromosomes de Péridiniens et de la cuticule des Arthropodes. Dans cette cuticule les fibres chitinoprotéiques sont bien distinctes; il est donc possible d'en donner une description géométrique très précise. Or cette description peut être reprise pour certains gels de DNA si l'on considère -non pas des segments linéaires et isolés de DNA puisque ceux-ci sont toujours plus ou moins coagulés après fixation et inclusion- mais la direction moyenne des fibres qui résultent de cette coagulation (Bouligand et coll., 1968; Bouligand, 1972). Par ailleurs l'analogie de certains chromosomes de Péridiniens avec des gouttelettes cholestériques est extrêmement convaincante (Bouligand, 1972). Les nucléoïdes de *Rhizobium*, comme les chromosomes de Péridiniens et les autres objets biologiques signalés ci-dessus, sont donc vraisemblablement des gels de DNA ayant une structure de cristal-liquide de type cholestérique. Robinson (1961, 1966) avait déjà obtenu dans certaines conditions, une solution cholestérique de DNA formant une phase continue. Des sphérulites ayant la structure en cristal-liquide cholestérique ont été observés plus récemment. Lerman (1973) a proposé une interprétation analogue pour les sphérulites de DNA qu'il a obtenues à partir d'une solution mixte de DNA et d'une autre macromolécule. Les sphérulites se forment lorsque les deux polymères se ségrègent au sein de deux phases distinctes.

L'essentiel des interprétations données par ces auteurs consiste à admettre -en accord avec les propriétés optiques constatées- que les segments de DNA sont localement parallèles mais montrent une rotation progressive et continue de leur direction dans les plans adjacents.

4°) Réflexions sur la signification du nucléoïde bactérien en général.

Dans la conception la plus courante il est traditionnellement admis que l'ensemble du DNA d'une bactérie (son génome) est localisé au niveau du nucléoïde. On attribue d'ailleurs à celui-ci les trois propriétés fondamentales du noyau des Eucaryotes (conservation, duplication et transcription du génome). Or de très nombreuses données expérimentales et théoriques suggèrent que le nucléoïde bactérien n'a pas toutes ces propriétés et que certaines d'entre elles sont réalisées ailleurs dans la bactérie. Nous essaierons de rassembler ici les arguments les plus convaincants à l'appui de cette hypothèse.

Le génome bactérien en activité visualisé par les expériences de Miller :
Chez les bactéries la transcription et la traduction sont couplées (Stent, 1964). Les remarquables clichés de O.L. Miller et coll. (1972, 1973) sur le génome en activité de *Salmonella typhimurium* et *Escherichia coli* démontrent que le RNA messenger constitue le lien matériel qui unit le DNA et les polysomes. En conséquence, si cette disposition est générale dans les bactéries, là où s'observent des polysomes il doit exister un (ou plusieurs) brin(s) de DNA (à moins d'admettre que les molécules de RNA polymérase en activité se situent toutes à l'interface entre nucléoïde et "cytoplasme" bactérien; certains travaux comme ceux de Dworsky et Schaechter (1973) suggèrent plutôt que cette activité pourrait se réaliser en partie au niveau de la membrane plasmique).

Le nucléoïde au cours du cycle bactérien :

Suivant son stade de développement le nucléoïde d'une bactérie peut être plus ou moins condensé (Fuhs, 1969). En règle générale au cours de la phase exponentielle de croissance, c'est-à-dire lorsque l'activité de synthèse protéique est très importante le nucléoïde est dispersé. Par contre, en phase stationnaire, ce nucléoïde devient plus compact et sa forme change d'une manière telle que le rapport surface sur volume tende vers un minimum (la surface du nucléoïde étant ici définie comme l'aire de la zone de contact avec le "cytoplasme"). Sous cette forme le nucléoïde est plus facile à visualiser par des techniques cytologiques (Fuhs, 1969). Un cas assez frappant de ce phénomène est fourni par le cycle des Rickettsiales et plus particulièrement des bactéries du groupe des PLT. Au cours de leur cycle ces bactéries qui sont des parasites intracellulaires obligatoires, passent essentiellement par deux formes bien distinctes; une forme de multiplication intracellulaire où le nucléoïde est clair et dispersé (corps initial) et une forme infectieuse où le nucléoïde est condensé (corps élémentaire). Or il apparaît, comme l'ont montré Gutter et coll. (1973), que de ces deux formes successives, seule la première est le siège d'une synthèse protéique importante.

Paradoxalement dans le cadre de la conception traditionnelle, c'est donc lorsque la quantité de DNA par bactérie tend à diminuer (du fait du ralentissement puis de l'arrêt des cycles de division) que le nucléoïde devient le plus visible.

Le nucléoïde au cours de la sporulation :

Lorsqu'une bactérie sporulante passe de la phase de croissance à la phase de sporulation, son nucléoïde se condense puis se scinde en deux amas globuleux dont l'un devient le nucléoïde de la préspore (Fitz-James, 1960; Young et Fitz-James, 1962; Ryter, 1965; Hoeniger et coll., 1965, en particulier fig. 19 et fig. 21 de ces auteurs). Bien que les synthèses protéiques continuent au cours de la sporulation et contribuent au renouvellement qualitatif des protéines (Schaeffer et coll. 1963) il semble qu'à la condensation corresponde une diminution du contenu total en RNA et du taux global des synthèses protéiques (Balassa, 1963).

Le nucléoïde sous l'effet d'inhibiteurs de la synthèse protéique :

De nombreuses conditions expérimentales peuvent amener une condensation du nucléoïde. La plus intéressante du point de vue théorique nous semble être l'inhibition spécifique des synthèses protéiques en particulier par l'utilisation d'antibiotiques telle qu'elle est réalisée dans les travaux de Daneo-Moore et Higgins (1972) ou ceux de Zusman et coll. (1973). Tous ces auteurs sont conduits à formuler l'hypothèse que la condensation du nucléoïde pourrait être due à l'adjonction des fibres de DNA extérieures au nucléoïde et préalablement impliquées dans la transcription. Une opinion voisine est formulée par Herzsberg et Revel : "...tout se passe comme si la fraction d'ADN non transcrite et non traduite à chaque instant se trouvait "en réserve" dans le nucléoïde alors que le reste de la molécule est activement engagé dans les processus couplés de transcription et de traduction" (Herzsberg et Revel, 1972, p. 110).

Remarques sur les conclusions tirées de l'autoradiographie :

L'autoradiographie en microscopie électronique ne possède pas, malgré les progrès réalisés, une résolution suffisante pour localiser dans une cellule bactérienne les sites d'incorporation de thymidine tritiée (Caro et Forro, 1961; Caro, 1969) ou d'uridine tritiée (Franklin et Granboulan, 1965). Tout au plus peut-on affirmer que le DNA nouvellement synthétisé se trouve plutôt au centre de la bactérie tandis que le RNA qui vient d'être formé se trouve plutôt à la périphérie. L'autoradiographie ne peut donc pas être utilisée pour étayer la conception courante.

La grande taille de la RNA-polymérase :

L'activité d'une molécule aussi grosse que la RNA polymérase s'expliquerait mal à l'intérieur d'un gel aussi compact que doit l'être le nucléoïde bactérien. Cet argument a été avancé par Maaløe et Kjølgaard (1966).

Remarques sur une argumentation de Kellenberger (1962) :

L'apparition des bactériophages sous leur forme virion au niveau du nucléoïde bactérien est incontestablement une condensation. Ceci n'implique pas cependant que le nucléoïde soit la forme dispersée et active du pool de DNA bactérien et viral comme cela a été avancé par Kellenberger (1962). La formation des têtes de phages à partir du nucléoïde serait en réalité une surcondensation du génome qui se trouve être associé à des polyamines et aux protéines de la capside. Des phénomènes assez voisins de condensation totale et d'inactivation complète se rencontrent chez les Eucaryotes au cours de la mitose (exceptés les cas de cryptomitose des Protistes (Hollande, 1972) où la condensation du génome est incomplète) et au cours de la spermiogenèse au moment de la transition des histones dans le noyau des spermatozoïdes de la plupart des espèces (Chevaillier, 1969).

Réexamen de l'analogie cellule bactérienne/cellule eucaryote :

Si une analogie doit être établie entre cellule bactérienne et cellule eucaryote il est souhaitable de choisir, pour la comparaison, un Eucaryote aussi proche que possible des Procaryotes. Or les Péridiniens fournissent cette occasion et permettent d'approfondir l'analogie grâce à la structure et la composition particulières de leurs chromosomes. De plus, dans le cas de ces derniers, le modèle théorique de Bouligand s'est trouvé confirmé sur plusieurs points. Ainsi l'existence postulée de fibres de DNA s'échappant du chromosome et pouvant s'étendre dans le nucléoplasme a été visualisée sur les chromosomes de *Prorocentrum micans* isolés par Soyer et Haappala (1973, 1974). De plus par l'étude autoradiographique Babillot (1970) a montré que, dans les noyaux de Péridiniens l'uridine tritiée est incorporée au niveau du nucléoplasme et non pas des chromosomes eux-mêmes. Cette situation est générale pour les cellules eucaryotes où l'euchromatine représente la forme dispersée et active du génome.

En ce qui concerne la distribution du DNA, il nous semble plus utile de comparer la bactérie tout entière au noyau de Péridiniens que d'apparenter seulement le nucléoïde bactérien au noyau d'Eucaryote. Dans toute cellule, qu'elle soit procaryote ou eucaryote, la majeure partie du DNA se rencontre au centre de la cellule tandis que les ribosomes occupent une position périphérique. La possibilité de conserver, de dupliquer, de transcrire et de traduire un génome dans un seul compartiment limité par une membrane caractérise l'état procaryotique. L'originalité des noyaux d'Eucaryotes est d'exporter dans le compartiment cytoplasmique par delà le système des membranes nucléaires, les RNA qu'ils fabriquent.

L'hypothèse qu'une partie du génome bactérien est dispersée dans la partie "cytoplasmique" de la bactérie alors que l'autre est condensée au niveau du nucléoïde, s'accorde bien avec la règle très générale selon laquelle le génome de toutes les espèces (Virus, Eucaryotes et par cette extension Procaryotes) existerait sous une forme condensée inactive et une forme dispersée qui serait le siège de la transcription et de la replication du DNA. L'équilibre quantitatif et qualitatif entre ces deux formes se modifierait en faveur de l'une ou l'autre au cours de différents phénomènes biologiques.

5°) Application au nucléoïde des *Rhizobium*; intérêt taxonomique.

Etant donné que nous avons étudié essentiellement des nodules naturels de légumineuses, nous ne pouvons affirmer avec certitude à quelles espèces de *Rhizobium* appartiennent les bactéries-bactéroïdes qui se trouvent dans ces nodules. Nous pouvons seulement présumer leur mode de croissance, rapide ou lent. Pour les trèfles, les *Viciae*, les luzernes et *Phaseolus vulgaris*, il est très vraisemblable que les *Rhizobium* impliqués dans ces nodules sont à croissance rapide puisque la très grande majorité des souches extraites de ces plantes produisent de l'acide (Norris 1965, voir aussi Fred et coll. 1932).

En ce qui concerne *Robinia pseudoacacia* Norris a montré, pour la souche extraite de ces nodules, qu'elle était productrice d'acide. Il en est de même pour *Lotus corniculatus* (Norris 1965, Jensen 1963) ainsi qu' *Anthyllis vulneraria* (Jensen 1963).

En ce qui concerne *Ononis repens* et *Astragalus bayonensis*, nous n'avons pas trouvé, dans la littérature, de données sur les caractères culturels des

bactéries de ces deux espèces, précisément, mais les travaux de Jensen suggèrent que ces genres font partie du groupe VIII de Fred et coll. dont *Lotus uliginosus* devrait être exclu parce que les souches qui en sont extraites ne produisent pas d'acide (Norris, 1965). Sauf démenti expérimental, il semble que toutes les autres légumineuses qui ont été étudiées, hébergent des *Rhizobium* à croissance lente et n'acidifiant pas le milieu (Norris, 1965; Fred et coll., 1932; Vincent, 1974).

Le résultat le plus important de notre étude est le suivant (voir le tableau résumé des conclusions) :

Les bactéries-bactéroïdes formés dans les nodules des trèfles (*Trifolium repens*, *T. pratense*, *T. incarnatum*, *T. filiforme*, *T. fragiferum*, *T. squamosum*), des *Viciae* (*Vicia sativa*, *V. hirsuta*, *Lathyrus tuberosus*, *Pisum sativum*), des luzernes (*Medicago sativa*, *M. maculata*, *M. minima*, *M. lupulina*), d'*Anthyllis vulneraria*, *Ononis repens*, *Lotus corniculatus*, *Astragalus bayonensis*, *Robinia pseudoacacia* et *Phaseolus vulgaris* ont un nucléoïde clair et dispersé.

Les bactéries-bactéroïdes formés dans les nodules d'*Albizzia lophanta*, *Mimosa pudica*, *Lotus uliginosus*, *Ornithopus perpusillus*, *Ulex europaeus*, *Sarothamnus scoparius*, *Genista anglica*, *Spartium junceum*, *Cytisus* sp., *Glycine max*, *Lupinus angustifolius*, *Cajanus cajan*, *Centrosema pubescens* et *Arachis hypogea*, ont un nucléoïde condensé, dense aux électrons et montrant très souvent des globules de polyphosphates.

En microscopie électronique, la présence de nucléoïdes clairs a aussi été notée ou est visible dans les bactéroïdes de trèfles étudiés par Dart et Mercer (1963), Mosse (1963), Dixon (1964, 1967), Jakovleva et Aksenova (1971), Pankhurst et coll. (1972), dans les nodules de *Pisum sativum* à *Rhizobium leguminosarum* étudiés par Dixon (1964), Jordan et Coulter (1965), Truchet (1970, 1971, 1973), Jakovleva et Aksenova (1971), dans les nodules des luzernes à *Rhizobium meliloti* par Jordan (1962), Jordan et coll. (1963), Truchet et Dénarié (1973). D'autre part dans leur étude des *Lotus*, Craig et Williamson (1972), Craig et coll. (1973), montrent qu'une partie des souches infectant les *Lotus* ont un nucléoïde clair sans aucune inclusion qui soit dense aux électrons.

En ce qui concerne les *Rhizobium* à croissance lente, plusieurs auteurs avaient attiré l'attention sur la structure particulière du nucléoïde, sans toutefois l'interpréter. On peut citer pour le soja, Bergersen et Briggs (1958), Bergersen (1968), Goodchild et Bergersen (1966), pour *Rhizobium lupini*, Jordan et Grinyer (1965), Dilworth et Kidby (1968), pour l'arachide, Aufeuvre (1973), pour *Phaseolus mungo*, Prasad et Deepesh (1971) et bien entendu pour les *Lotus*, Craig et coll. (1972, et 1973).

Dans le chapitre précédent, nous avons montré à l'aide de plusieurs exemples que dans une bactérie à nucléoïde dispersé, la synthèse protéique est quantitativement importante. A l'inverse dans une bactérie à nucléoïde condensé le taux de synthèse protéique est généralement faible.

Or nous constatons que le nucléoïde clair, dispersé, correspond aux *Rhizobium* à croissance rapide tandis que le nucléoïde condensé accompagné de globules de polyphosphates correspond aux *Rhizobium* à croissance lente.

Ceci nous amène à penser que la protéosynthèse est vraisemblablement moins importante dans les *Rhizobium* à croissance lente aussi bien quand on les considère *in vitro* pour déterminer cette vitesse, que dans les nodules où leur nu-

cléoïde devient très apparent. Cependant, il ne s'agit pas de remplacer une théorie simpliste par une autre théorie simpliste. En effet, la corrélation qui vient à l'esprit (nucléoïde dispersé correspond à protéosynthèse importante; nucléoïde condensé correspond à protéosynthèse réduite) doit être nuancée par l'idée que dans les deux cas (R- rapides ou R- lents) les *Rhizobium* devenus fixateurs d'azote n'ont sans doute qu'un faible taux de synthèse protéique une fois que la plupart des enzymes et des protéines de structure, nécessaires pour la fixation d'azote, ont été élaborées. En sens inverse les bactéries-bactéroïdes qui peuvent rester vivants plusieurs semaines, voire même pendant quelques mois sans se diviser ont sans doute besoin d'un renouvellement de certaines de leurs protéines.

En résumé, nos observations mettent en évidence une corrélation intéressante aux points de vue systématique et physiologique. Elles ne démontrent rien en dehors de cette corrélation mais elles suggèrent toute une série d'expériences fondées sur une théorie plus appropriée que la conception ancienne.

En effet le nucléoïde (souvent appelé "noyau") et le DNA des bactéries-bactéroïdes des nodules ont déjà donné lieu à de nombreux travaux (Rautanen et Saubert, 1955; Schaede, 1941; Heuman, 1952; Chizhik, 1959; Bergersen, 1955; Bergersen, 1958; Dilworth et Williams, 1967; Agarwal et Mehta, 1974; Sutton, 1974). Ces travaux sont souvent contradictoires dans la conception classique parce que dans la plupart il n'est pas fait de distinction entre *Rhizobium* à croissance lente et *Rhizobium* à croissance rapide et parce que le nucléoïde y est implicitement considéré comme l'équivalent du génome entier. A l'inverse bon nombre de ces résultats sont compatibles avec nos observations et avec la nouvelle interprétation du nucléoïde bactérien. Il faut en plus, tenir compte du taux de croissance et du rythme des divisions qui déterminent la quantité moyenne de DNA présente à un instant donné dans chaque bactérie (Lark, 1966). En synthétisant ces données il apparaît vraisemblable que les bactéries-bactéroïdes ont moins de DNA que les *Rhizobium* en croissance exponentielle *in vitro* mais ils possèderaient néanmoins un exemplaire du génome complet (Dilworth et Williams, 1967; Sutton, 1974).

D'autre part, si nos hypothèses sont exactes, les bactéries-bactéroïdes des *Leucaena*, *Sesbania*, *Astragalus*, *Psoralea*, *Adesmia* et *Hedysarum* qui se forment à partir de souches productrices d'acide (Norris, 1965), doivent avoir un nucléoïde clair sans globules denses. Leur étude ultrastructurale devrait permettre de tester l'hypothèse et éventuellement, en cas de vérification, de constituer de nouveaux groupes ayant valeur d'espèce. Nous considérons en effet que les principes de base de la classification de Fred et coll. demeurent valables et utiles (un seul genre *Rhizobium*, plusieurs espèces correspondant aux groupes d'inoculation). (voir fig. 9, ci-après).

V - LA FORME DES BACTERIES-BACTEROIDES. INTERET TAXONOMIQUE

La microscopie électronique permet de vérifier une constatation déjà faite en microscopie photonique par d'anciens auteurs comme Wigand (1887), Beijerinck (1888), Morck (1891), Dangeard (1926) ou Müller et Stapp (1925). Ceux-ci avaient fait remarquer que la forme des bactéroïdes est caractéristique des légumineuses où ils se développent ou plus exactement que dans un certain nombre de groupes

Bactéroides ou bactéries différenciées

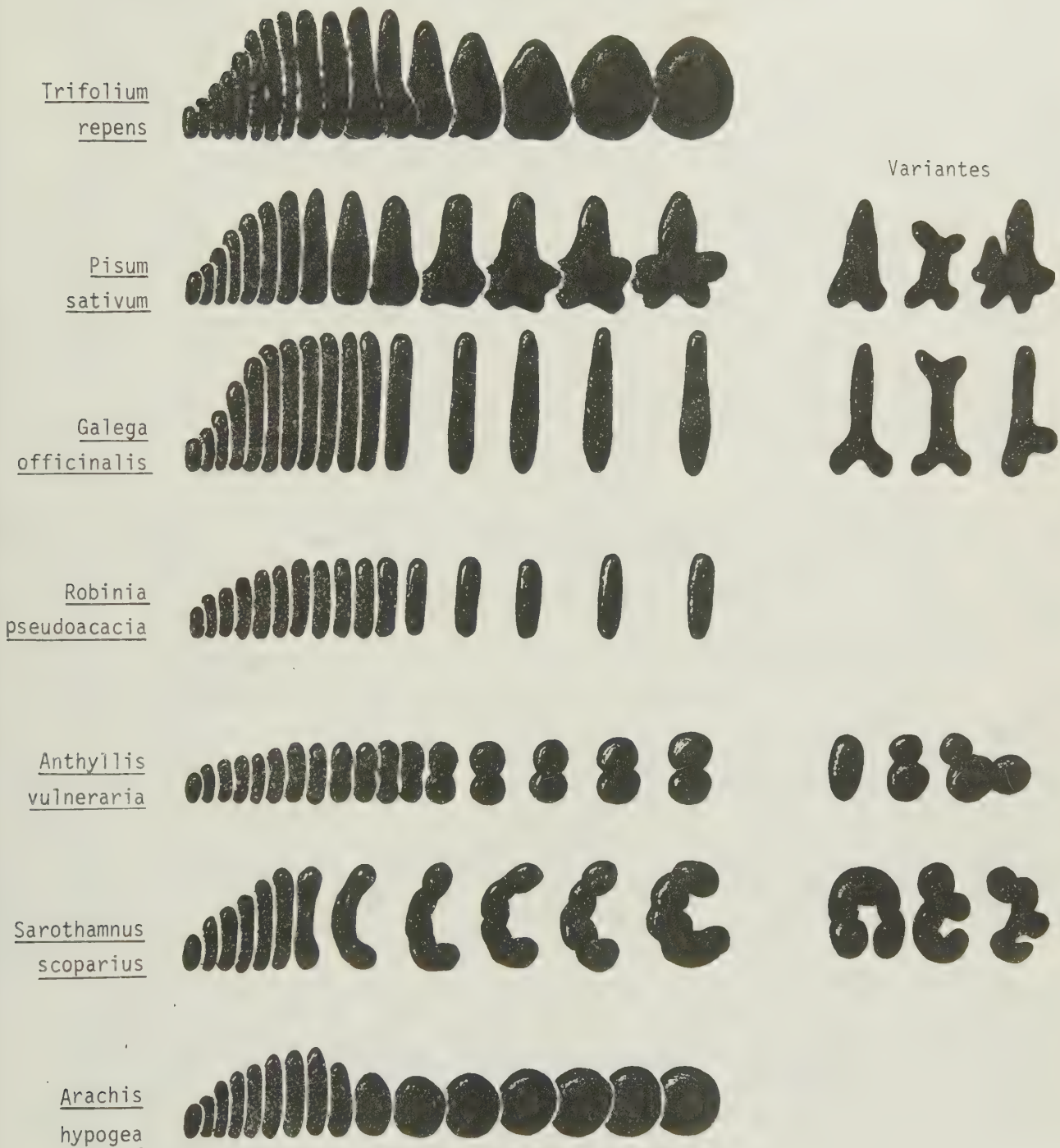


Fig. 8 - Essai de figuration dynamique de l'évolution de la forme et de la taille des Rhizobium dans quelques nodules de Légumineuses appartenant à des groupes d'inoculation différents.

GENRE RHIZOBIUM

aptitude à former des nodules fixateurs d'azote

par

symbiose racinaire avec des Légumineuses

in vitro : production d'acide, croissance rapide

en milieu liquide : ciliature péritriche
dans les nodules : nucléoïde clair,
dispersé, sans polyphosphates

trifolii

Trifolium
(6 espèces)

leguminosarum

Vicia (2)
Lathyrus tuberosus
Pisum sativum

meliloti

Medicago (4)
(?) Galega officinalis



Lotus corniculatus
Anthyllus vulneraria,
Astragalus bayonensis



phaseoli

Phaseolus vulgaris



Robinia pseudoacacia

etc.

in vitro : pas de production d'acide, croissance lente
en milieu liquide : ciliature subpolaire
dans les nodules : nucléoïde dense aux
électrons, condensé avec
globules de polyphosphates



torulosum
Ulex europaeus, Sarothamnus scoparius,
Genista anglica,
Spartium junceum



lupini

Lupinus angustifolius, Ornithopus perpusillus



japonicum

Glycine max

etc.

Figure 9

d'ordre taxonomique concernant le genre Rhizobium
présentées sous forme d'un diagramme à
à partir de l'étude comparative des nodules de Légumineuses
à partir des données de la littérature

d'inoculation la forme des bactéroïdes est caractéristique. Nos observations permettent d'étendre ce fait qui est l'un des critères de spéciation proposé par Fred, Baldwin et MacCoy dans leur ouvrage de 1932.

Si l'on considère séparément les trèfles, les *Viciae*, les luzernes, l'uniformité des bactéroïdes à l'intérieur des trois groupes est assez remarquable. Les bactéroïdes des trèfles deviennent sphériques ou ovoïdes après être passés par une forme en poire. Les formes trapues à ramifications dichotomes sont caractéristiques des *Viciae*, tandis que la forme en massue peu gonflée latéralement mais très allongée est caractéristique des luzernes. Or la plupart des auteurs ont insisté sur le fait que les légumineuses de ces trois groupes constituent avec leurs *Rhizobium* des groupes d'inoculation bien établis. Dans ces trois cas, il semble vérifié que la forme des bactéroïdes, appréciée statistiquement, et la façon dont elle se modifie, soient caractéristiques du groupe d'inoculation. Il sera intéressant de vérifier si les bactéroïdes de *Galega officinalis* appartiennent au groupe *melitoti*.

Les bactéries différenciées de *Phaseolus vulgaris*, de *Robinia pseudoacacia*, sont des bâtonnets rectilignes. Il s'agit là de groupes d'inoculation différents (Fred et coll., 1932; Norris, 1965) où la forme des bactéries différenciées ne peut être tenue pour caractéristique du groupe.

Le fait que les bactéroïdes de *Lotus corniculatus*, *Anthyllis vulneraria*, *Ononis repens* et *Astragalus bayonensis* qui poussent dans le même type de sol (dunes côtières sablonneuses) aient la même morphologie et le même type de développement, nous amène à penser que ces plantes constituent un groupe d'inoculation croisée. Ce fait est admis dans la classification de Fred et coll. pour *Lotus corniculatus* et *Anthyllis vulneraria*. Les travaux de Jensen (1963) le vérifient et suggèrent en outre qu'*Ononis repens* pourrait bien appartenir à ce groupe de même que l'espèce *glycyphyllus* du genre *Astragalus*.

Concernant les *Rhizobium* à croissance lente le nombre de légumineuses où les bactéries n'évoluent pas au delà du stade filamenteux est beaucoup plus élevé que dans le groupe précédent. Ce fait pourrait s'accorder avec la conception de Norris qui considère les *Rhizobium* à croissance lente comme plus primitifs que les *Rhizobium* à croissance rapide. Comme tous les *Rhizobium* des nodules passent d'abord par un stade filamenteux, on pourrait penser que ceux qui n'évoluent pas au delà de cette forme sont à un stade moins avancé de l'intégration symbiotique. Chez les *Mimosoïdae* (*Albizzia lophanta* et *Mimosa pudica*) seules les formes filamenteuses ont été observées.

Dangeard avait proposé d'appeler *Rhizobium torulosum* les bactéries qui se développent dans les nodules d'*Ulex* et de *Sarothamnus* et y forment des bactéroïdes "toruleux" très caractéristiques par leur forme. Si l'inoculation croisée est démontrée entre ces légumineuses, et qu'il y a réellement une spécificité de groupe (absence d'infection efficiente sur d'autres espèces), il y aura lieu d'en faire une espèce reconnue au même titre que celles qui sont déjà admises.

En ce qui concerne *Arachis hypogea* les bactéroïdes sphériques ont aussi été décrits par Aueuvre (1973). Chez *Vigna sinensis*, il existe également des bactéroïdes quasi-sphériques (Dart et Mercer, 1966). Il serait donc intéressant de rechercher si des bactéroïdes de ce type se rencontrent dans d'autres légumineuses et de voir si une inoculation croisée efficiente est possible entre elles. D'ores et déjà, il apparaît que le groupe "cowpea" tel qu'il est décrit

dans l'ouvrage de Fred et coll. est en réalité un ensemble hétérogène et c'est à son encontre que les plus vives critiques contestant le concept de groupe d'inoculation ont été portées, en particulier par Wilson (1944). Notons que par opposition aux bactéroïdes en sphérules de *Lotus corniculatus*, *Anthyllis*, *Ononis* et *Astragalus*, les bactéroïdes d'arachide sont toujours constitués d'une seule sphère à l'intérieur d'une même vacuole. Peut-être, dans certains cas, faudrait-il restreindre la notion de groupe d'inoculation à une région géographique et ne pas lui donner automatiquement une valeur planétaire. Il est en effet signalé que des souches européennes de *Rhizobium trifolii* inoculent mal certains trèfles africains (Vincent, 1974).

La règle d'identité de forme des *Rhizobium* dans les nodules d'un même groupe d'inoculation a besoin d'être vérifiée expérimentalement par des essais critiques d'inoculation croisée avec transgression ou sans transgression de groupe, mais il y a de fortes présomptions pour qu'elle soit vérifiée. Ces recherches permettront de dire si la forme des bactéroïdes est déterminée 1) par le *Rhizobium*, 2) par la plante seule ou 3) selon toute vraisemblance, par une interaction entre la légumineuse et le *Rhizobium* de son groupe d'inoculation.

B - NODULES A ACTINOMYCETES

I - STRUCTURE COMPAREE DES NODULES ETUDIES

Des espèces que nous avons étudiées, *Alnus glutinosa* est certainement celle qui est la plus travaillée par la plupart des auteurs, au point qu'on en ait fait le type des nodules à Actinomycètes. Ceci tient peut-être à des contingences géographiques. C'est sans doute, en Europe, celle qui se trouve le plus facilement. Ses nodules sont très gros étant donné qu'il peuvent atteindre plusieurs centimètres. Les nodules d'*Hippophaë rhamnoides* et *Myrica gale* que nous avons également étudiés étaient beaucoup plus petits. C'est aussi chez *Alnus* que nous avons eu les résultats les plus complets puisque les trois stades de développement de l'Actinomycète (filaments, vésicules, granules) ont été observés. Chez *Hippophaë* nous n'avons pas vu de granules, quant à *Myrica gale*, ses nodules ne contenaient que des filaments. On peut se demander s'il n'y a pas là une relation avec la vigueur de la plante-hôte dans les diverses stations qu'elle occupe. En effet, des Abbayes (1971), signale dans sa flore du Massif Armoricain que *Myrica gale* est en régression dans les marais de Châteauneuf là où nous l'avons pris. De même, *Hippophaë rhamnoides* constitue une relique post-glaciaire dans les stations naturelles qu'elle occupe.

Néanmoins, cette explication n'est sans doute pas suffisante. En effet, le nombre des nodules de *H. rhamnoides* et de *M. gale* qui ont été étudiés, n'est pas assez important pour tirer des conclusions générales. Le problème de l'achèvement (ou du non achèvement) du cycle de l'Actinomycète dans les nodules, a été étudié par Van Dijk dont les travaux sont rapportés par Quispel (1974). Van Dijk a constaté que les nodules d'*Alnus glutinosa* contenaient, ou ne contenaient pas, de granules suivant les stations considérées. Les essais d'inoculation croisée ont montré que l'aptitude à former des granules est fonction de l'Actinomycète et non pas de l'hôte, semble-t-il.

II - COMPARAISON DES NODULES DE LEGUMINEUSES ET DES NODULES A ACTINOMYCETES

Ces nodules ont en commun les propriétés suivantes qui sont fondamentales. Il s'agit dans les deux cas : a) de nodules racinaires; b) fixateurs d'azote atmosphérique; c) formés par des procaryotes; d) en symbiose avec une plante.

a) Nodules racinaires : *Rhizobium* et les Actinomycètes se développent dans le sol. La biomasse de ces espèces qui vit dans le sol est certainement importante par rapport à la biomasse qui se trouve dans les nodules. Il n'y a donc rien d'étonnant que les nodules se forment sur les racines et non pas sur d'autres parties des plantes. Le tissu qui abrite les symbiotes est du parenchyme cortical comme cela est la règle pour les symbiotes racinaires. Dans les deux cas, la symbiose amène l'apparition d'un méristème grâce auquel le nodule s'accroît. Les nodules se trouvent toujours près de la surface du sol dans des zones bien aérées. Les lenticelles qui se forment souvent à la surface des nodules d'*Alnus* indiquent qu'il s'agit en quelque sorte "d'organes aériens légèrement enfoncés dans le sol", si l'on peut dire. On sait aussi que les nodules de Légumineuses ne sont fonctionnels que si l'air accède facilement aux méats aérifères de la zone rouge fixatrice.

b) Fixateurs d'azote atmosphérique : nous ne détaillerons pas cet aspect du problème qui a été étudié par de nombreux auteurs, mais nous évoquerons une question relative à la nitrogénase. Van Dijk et Merkus (cités dans Quispel, 1974), ont posé la question de savoir quel rôle jouent les corps striés-ponctués qui sont un élément constant des vésicules. Nous avons noté qu'ils peuvent aussi exister dans les filaments de l'Actinomycète et qu'ils possèdent une certaine ressemblance avec des inclusions cristallines ou paracristallines des bactéroïdes de *Galega officinalis*. Ne pourrait-il pas s'agir de la nitrogénase ou d'une de ses fractions? D'après les travaux de Stasny et coll. (1974), cette enzyme a une taille et un mode de cristallisation qui ne semblent pas incompatibles avec la structure des inclusions striées-ponctuées des vésicules que l'on sait être le siège principal de la fixation d'azote dans les nodules du type *Alnus*.

c) Formés par des procaryotes : malgré leur nom, les Actinomycètes ont en effet une structure procaryotique évidente lorsqu'ils sont observés en coupe au microscope électronique. Cette remarque a son importance car on sait maintenant que la nitrogénase n'existe que chez les procaryotes. Les mycorrhizes qui par définition impliquent la symbiose d'un Champignon (Eucaryote) avec une racine, ne fixent pas d'azote si ce n'est par des bactéries ou autres procaryotes vivant dans leur rhizosphère.

d) En symbiose avec une plante : La réduction de l'azote moléculaire à l'état d'ammoniac, nécessite l'apport d'une grande quantité d'énergie (même si les chimistes s'extasient devant cette réaction douce réalisée naturellement). C'est la plante qui fournit cette énergie au moyen de la photosynthèse réalisée dans ses chloroplastes. On peut remarquer que les cellules infectées -aussi bien dans les nodules de Légumineuses que dans les nodules à Actinomycètes- les plastes sont généralement dépourvus d'amidon ou en possèdent une en bien moins grande quantité que les cellules non-infectées avoisinantes.

Malgré ces ressemblances il y a des différences très significatives entre les nodules des Légumineuses et les nodules à Actinomycètes. Tout d'abord, les plantes-hôtes sont totalement différentes, bien qu'elles occupent des positions assez voisines parmi les *Lignoseae* de la classification d'Hutchinson (1959). Alors que *Rhizobium* se limite à la seule famille des *Leguminosae*, les Actinomycètes peuvent former des nodules avec des espèces appartenant à de nombreuses familles dont beaucoup sont des reliques postglaciaires qui vivent en pionnières sur des sols pauvres en azote.

Les différences essentielles sont cependant d'ordre cytologique. Bien qu'étant des Procaryotes, *Rhizobium* et les Actinomycètes des nodules sont distincts quant à leur position systématique. *Rhizobium* est une bactérie gram-négative, alors que les Actinomycètes sont des bactéries à paroi gram-positive, tout au moins en début de cycle. Ceci est vraisemblablement à l'origine des différences cytologiques constatées dans la structure des cellules infectées des nodules. Dans les nodules à Actinomycètes, le symbiote bactérien est toujours séparé du cytoplasme de la plante par une couche cellulosique et le plasma de la cellule-hôte. Cette disposition qui est d'ailleurs celle des champignons filamenteux parasites ou symbiotes des racines de plantes, provient sans doute du fait que l'Actinomycète même s'il se cloisonne, persiste en un réseau de filaments. A l'inverse, *Rhizobium* étant une bactérie gram-négative, ces cellules ne restent pas jointives après leurs divisions. Elles sont donc englobées séparément dans une vacuole au sein des cellules qui deviennent fixatrices d'azote. Néanmoins, les *Rhizobium* forment des cordons d'infection qui furent parfois confondus avec des hyphes de champignons. Les bactéries des cordons sont un peu dans la même position extracellulaire que les filaments et les vésicules des nodules à Actinomycètes.

Ceci est peut-être en relation avec l'autre différence fondamentale qui distingue les deux types de nodules. Les *Rhizobium* une fois qu'ils se sont différenciés, ont perdu le pouvoir de se diviser. L'intégration cellulaire est telle qu'ils meurent en même temps que leurs cellules-hôtes. Il s'agit donc d'une différenciation irréversible précédant la mort du symbiote. Par contre, les Actinomycètes accomplissent un cycle comprenant successivement la prolifération des filaments, la formation des vésicules et l'apparition des granules qui auraient valeur de spores (Quispel, 1974).

PLASTES

Quand on songe que les écrits scientifiques sur les plastes pourraient actuellement remplir des bibliothèques entières, il pouvait apparaître présomptueux d'avoir voulu produire encore quelque chose d'original sur le sujet. Néanmoins, nous avons quelques raisons. Tout d'abord -et nous l'avons déjà mentionné- l'action des mycoplasmes de plantes sur les plastes des feuilles et des pétales est extrêmement significative pour comprendre la symptomatologie de ces maladies à mycoplasmes. Ici encore, l'étude des témoins sains était nécessaire. Elle nous a amené à la recherche des éléments caractéristiques de la transformation des chloroplastes en chromoplastes.

Il y a aussi l'étude d'une maladie du douglas (*Pseudotsuga menziesii*) remarquée par D.G. Strullu. Dans certaines circonstances, les jeunes pousses de cette espèce restent tordues. L'étude ultrastructurale du phloème, pour y détecter d'éventuels parasites, s'est révélée négative. On sait depuis, que la maladie est due à une carence en cuivre maintenant bien connue (Bonneau, 1971; Strullu, 1973). Néanmoins, le phloème des pousses malades et celui des témoins sains contenaient des protéoplastes dont l'évolution a été suivie. L'une des protéines présentes dans ces plastes montrait des changements de structure qui semblaient pouvoir être interprétés en faisant appel à la notion de cristal-liquide -notion dont l'intérêt en biologie a été souligné par Y. Bouligand. D.G. Strullu et nous-mêmes avons ensuite réalisé une étude comparative des plastes du phloème de quelques Gymnospermes afin de cerner plus précisément le ou les groupes systématiques qui possèdent des protéoplastes de phloème.

Par ailleurs, l'étude ultrastructurale comparative des nodules de légumineuses nous avait enseigné que les *Rhizobium* de ces nodules sont extrêmement divers au point qu'ils peuvent être distingués par leur ultrastructure propre lorsqu'ils ont atteints leur stade différencié. Un parallèle était alors possible avec les plastes dont plusieurs travaux avaient montré qu'ils étaient -dans une certaine mesure- caractéristiques de groupes systématiques bien définis, en particulier chez les Algues (travaux de Gibbs en particulier). C'est ce parallèle que nous avons voulu vérifier par l'étude de quelques algues caractéristiques. Notre travail a été facilité par la proximité de la mer.

A partir d'échantillons de *Melampyrum pratense* L. récoltés par D.G. Strullu, nous avons réalisé avec celui-ci l'étude ultrastructurale des "pseudonodules" racinaires que forme cette espèce ainsi que d'autres *Rhinanthaceae*. Tout en ayant présent à l'esprit le fait que ces plantes sont des hémiparasites, nous nous sommes demandés si les excroissances de leurs racines ne pourraient héberger un parasite ou un symbiote. En réalité, il s'agit vraisemblablement d'une différenciation glandulaire intéressante par les plastes qu'elle contient.

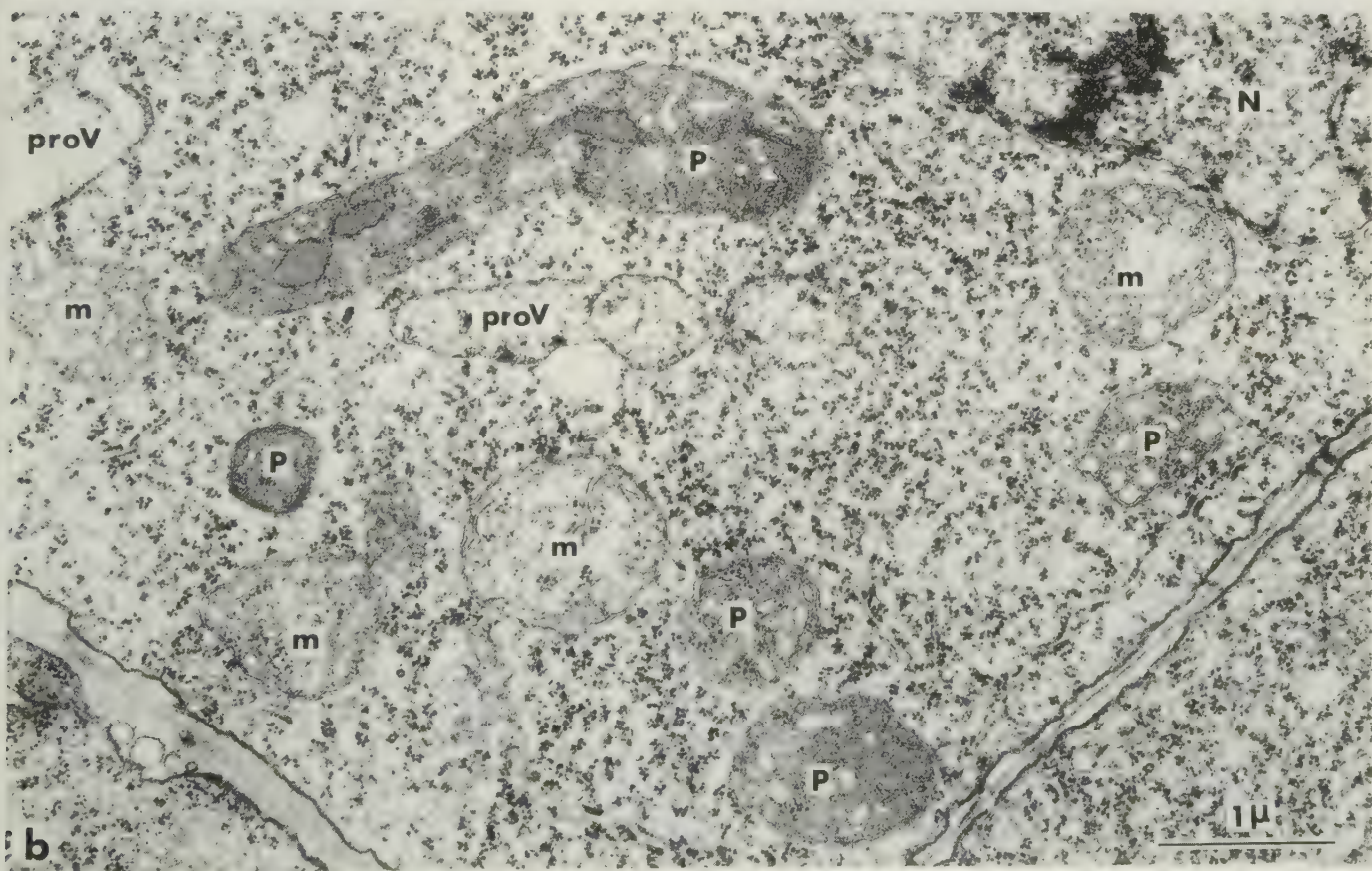
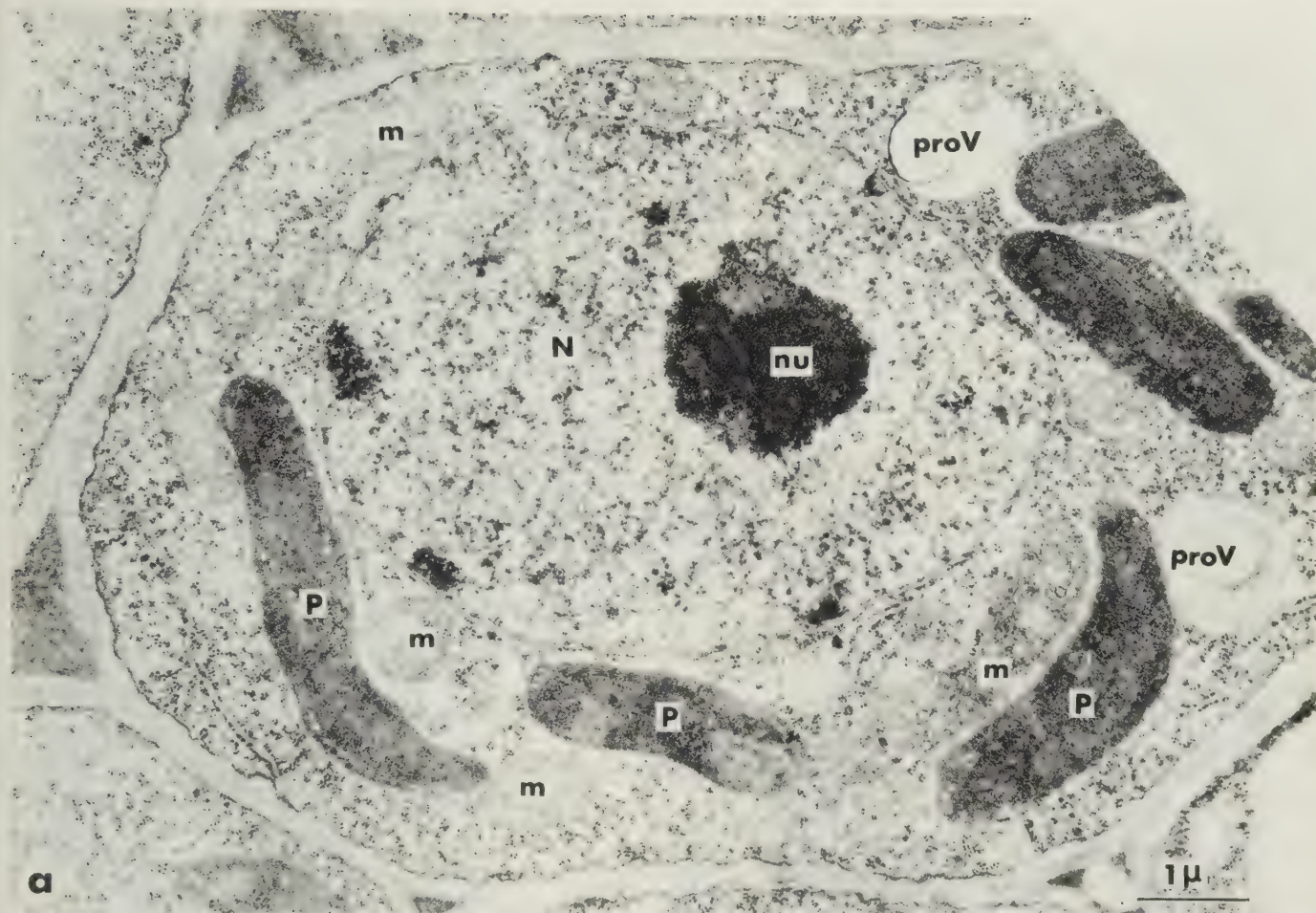
Enfin, il nous faut évoquer notre émerveillement initial lorsque nous avons vu paraître pour la première fois sur l'écran du microscope, la remarquable harmonie du système lamellaire d'un chloroplaste. La beauté de cette image a sans doute déterminé notre intérêt ultérieur pour la microscopie électronique.

Fig. a - Dans cette cellule méristématique du bourgeon terminal d'une tige de *Casuarina* sp., les plastes ne sont plus exactement des proplastides, mais des plastides peu différenciés commençant à élaborer le système de lamelles chlorophylliennes caractéristiques des chloroplastes à granums. Ils ont un stroma très dense où l'on distingue à plus fort grossissement de nombreux ribosomes. La cellule qui les contient est encore au stade méristématique : rapport nucléo-cytoplasmique élevé, nucléole volumineux, cytoplasme très peu vacuolisé et riche en ribosomes, méats aérifères pas encore formés. Corrélativement, les plastides semblent encore très déformables et ils se trouvent dans le cytoplasme, à mi-distance entre le noyau et les parois de la cellule.

Fig. b - Dans cette cellule très proche du méristème apical d'une racine de *Coleus blumei* Benth., les plastides ont aussi un stroma très dense. Ils renferment des ribosomes vraisemblablement groupés en polysomes et quelques vésicules membranaires parfois aplaties. Ici encore la cellule qui les contient, possède les traits caractéristiques d'une cellule méristématique. Cette figure montre en particulier la richesse du cytoplasme en ribosomes. Des vacuoles (proV) sont aussi en formation. Les mitochondries, qu'il n'est pas toujours facile de distinguer des plastides en raison de leur forme (voisine de celle des plastides), de leurs crêtes et vésicules dérivées également de leur membrane interne, de leurs ribosomes et de leurs plages à DNA condensé. C'est la densité du stroma qui constitue généralement le meilleur critère distinctif. En effet, la matrice mitochondriale est beaucoup plus claire dans ce cas où une double fixation glutaraldéhyde-osmium a été utilisée.

P : plaste; m : mitochondrie; N : noyau; nu : nucléole, proV : vacuole en formation.

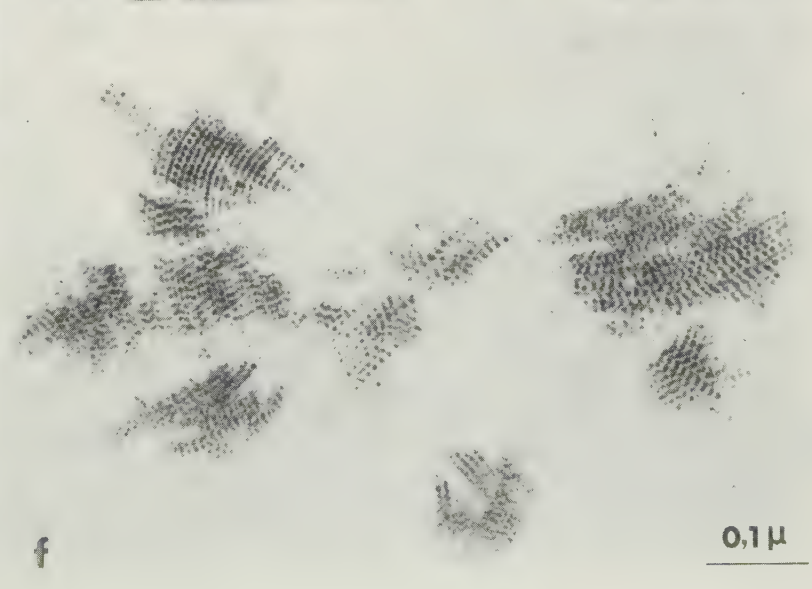
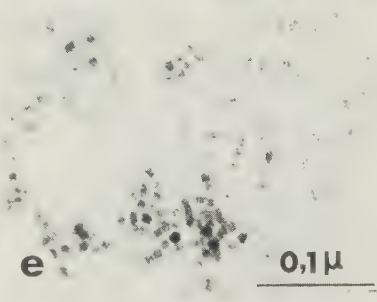
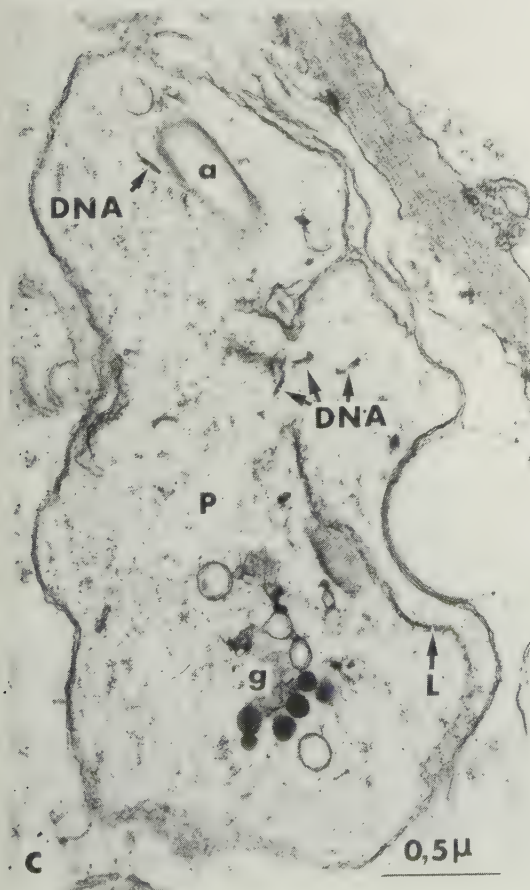
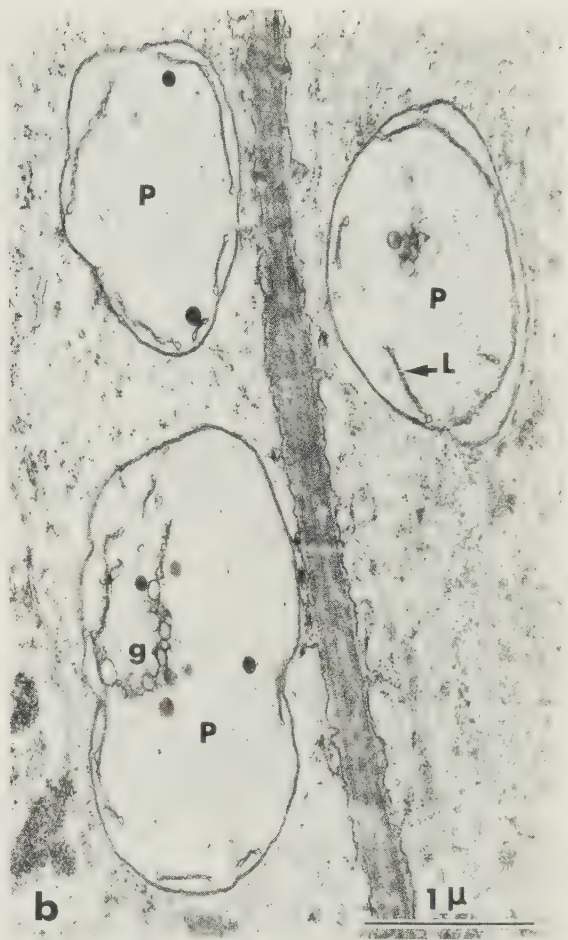
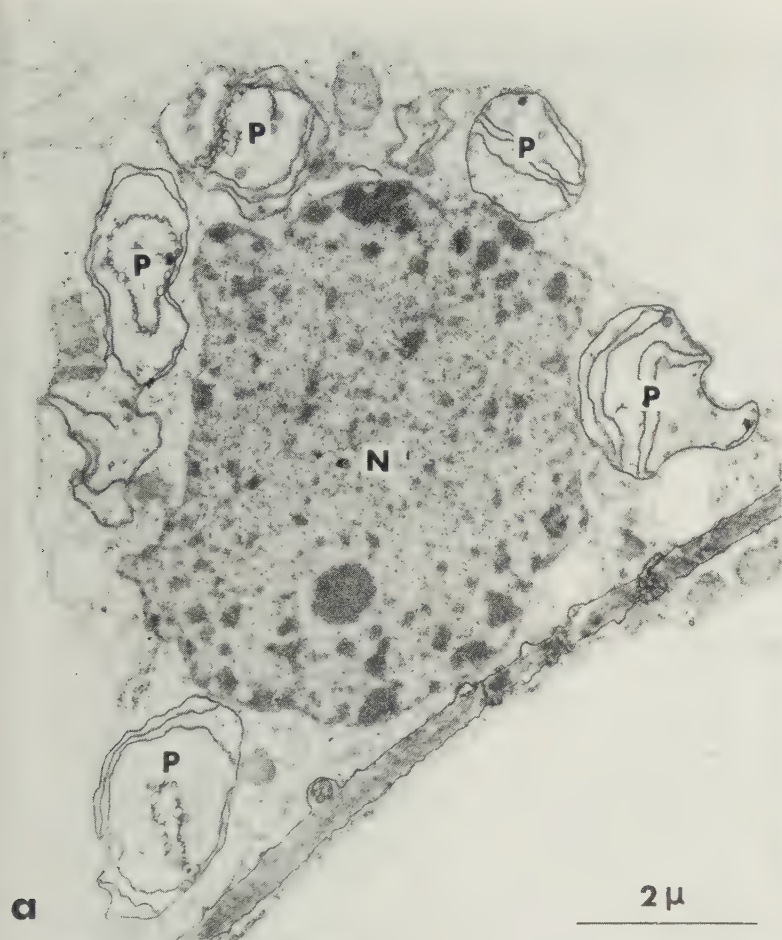
(originaux non publiés)



Les plastés qui se développent à partir des proplastés des méristèmes radiculaires restent généralement incolores (à l'exception des chromoplastés de la carotte); ces leucoplastés confèrent leur couleur blanche aux jeunes racines. Ceux que l'on voit ici appartiennent à des cellules de parenchyme cortical (non infecté par les *Rhizobium*) d'un nodule de *Trifolium repens*. Ces cellules différenciées possèdent une grande vacuole centrale. Les leucoplastés qui s'y trouvent sont beaucoup plus volumineux que les proplastés des méristèmes radiculaires. Ils montrent ici quelques lamelles dérivées de la membrane interne, des grains d'amidon peu volumineux, du DNA condensé et coagulé par les processus de fixation et déshydratation, des globules osmiophiles et dans les figures c, d, e, f, de la phytoferritine (un complexe fer-protéine constitué de six unités en position caractéristique, Hyde et coll., 1963; Farrant, 1954; Bessis et Breton-Gorius, 1960; Kerr et Muir, 1960). Cette phytoferritine est soit dispersée (fig. c, d, e), soit groupée en amas paracristallins caractéristiques (fig. f).

a : grain d'amidon; g : globule osmiophile; L : lamelle.

(originaux non publiés)



AMYLOPLASTES
(plastés amylières)
(plastés riches en grains d'amidon)

La microscopie photonique permet de voir très aisément les grains d'amidon, mais elle ne permet généralement pas de voir les plastés qui contiennent ces grains. La microscopie électronique possède cet avantage.

L'amidon peut s'accumuler aussi bien dans des organes aériens (fig. a, b,c), que dans des organes souterrains (fig. d,e,f,g,h).

Fig. a - Plaste chlorophyllien et amylière (chloroamyloplaste) d'une cellule stomatique de *Trifolium pratense* L. t : thylakoïdes d'un granum.

Fig. b - Plaste chlorophyllien et amylière (chloroamyloplaste) d'une cellule de parenchyme cortical de tige de giroflée (*Cheiranthus cheiri* L.). En encart, une zone de DNA condensé et coagulé par la fixation de ce plaste. t : thylakoïdes granaires; m : mitochondrie.

Fig. c - Plaste chlorophyllien et amylière (chloroamyloplaste) d'une cellule du parenchyme cortical d'une jeune tige de *Cupressus arizonica*.

Fig. d - Contrairement à la microscopie photonique, la microscopie électronique utilisant des coupes fines, ne permet pas de voir les stries d'accroissement des grains d'amidon. A chaque technique ses avantages et ses inconvénients!

Grain d'amidon d'un amyloplaste d'une cellule non infectée d'un nodule de *Trifolium repens* L.

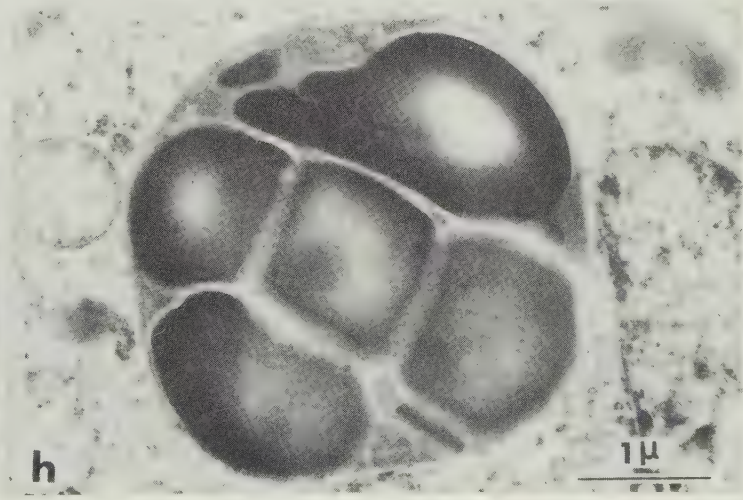
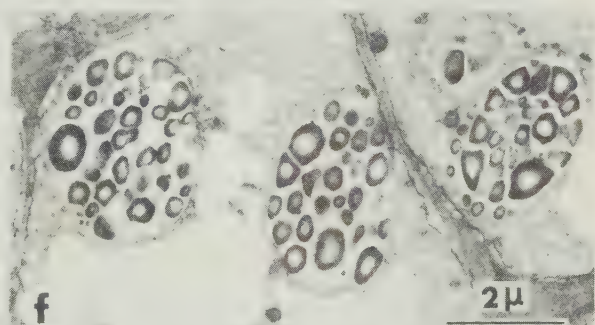
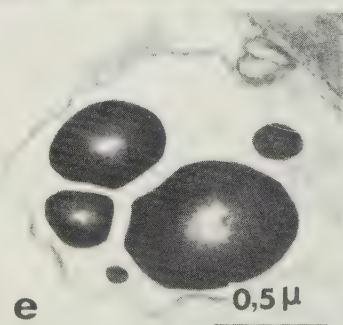
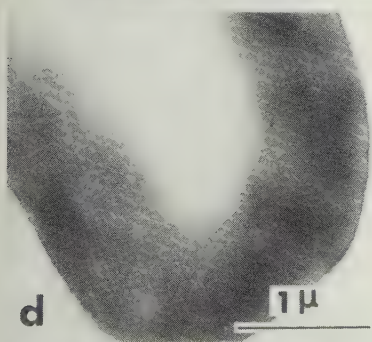
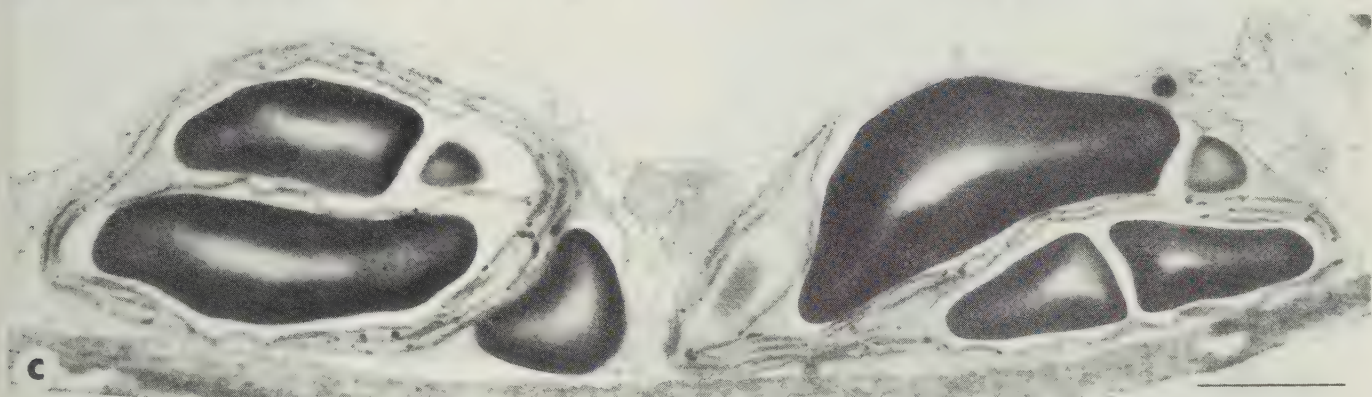
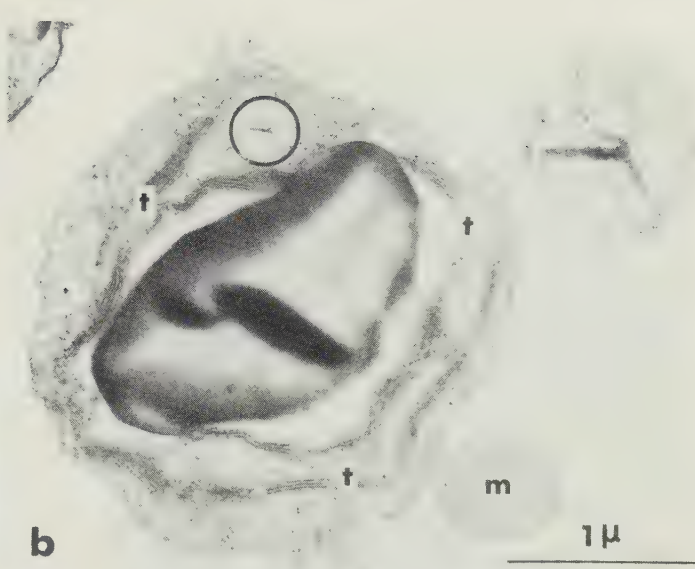
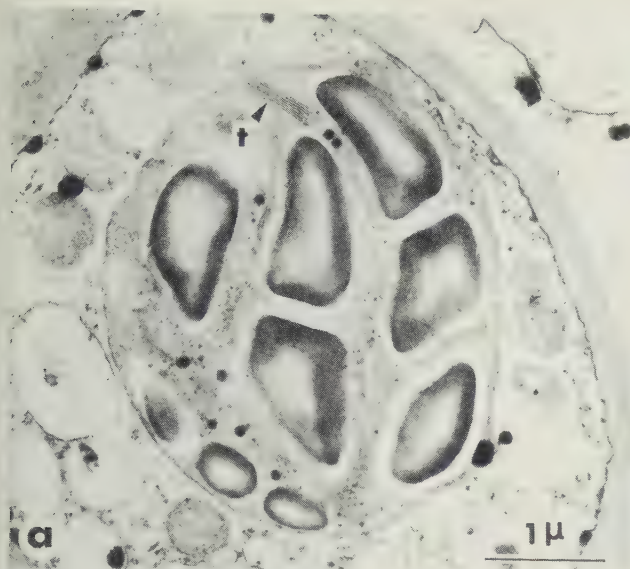
Fig. e - Plaste amylière d'un tube criblé du phloème de *Nicotiana tabacum* L. A ce stade, les grains d'amidon ne sont pas encore désorganisés, bien que que le plaste soit déjà en voie de désagrégation.

Fig. f - Amyloplastés des cellules endodermiques de la racine de *Vinca rosea* L.

Fig. g - Amyloplaste d'une cellule de parenchyme cortical, non-infectée, d'un nodule d'*Alnus glutinosa* (L) Gaertn.

Fig. h - Amyloplaste d'une cellule de parenchyme cortical, non-infectée, d'un nodule d'*Astragalus bayonensis* L.

(originaux non publiés)



(plastes à lamelles chlorophylliennes, sièges de la photosynthèse)

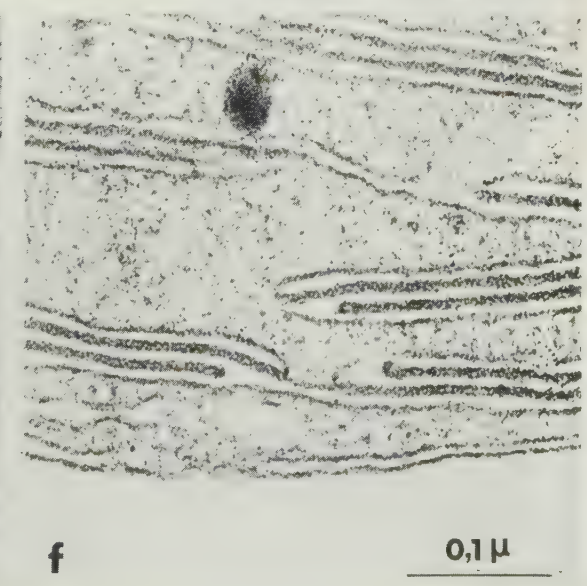
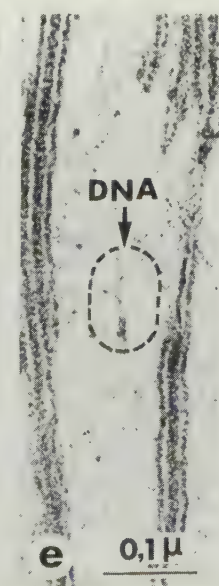
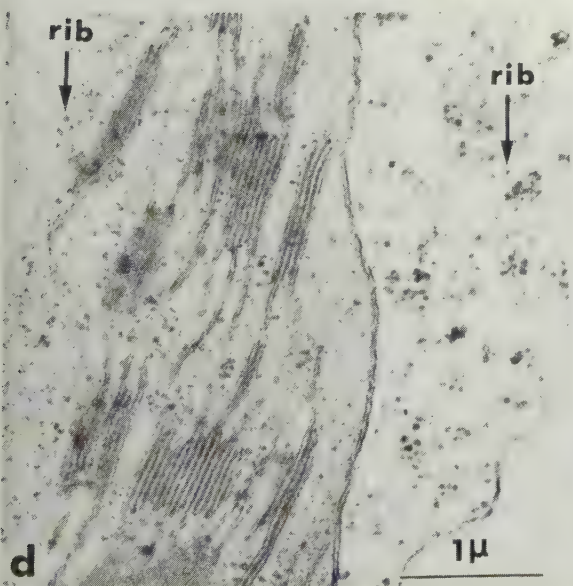
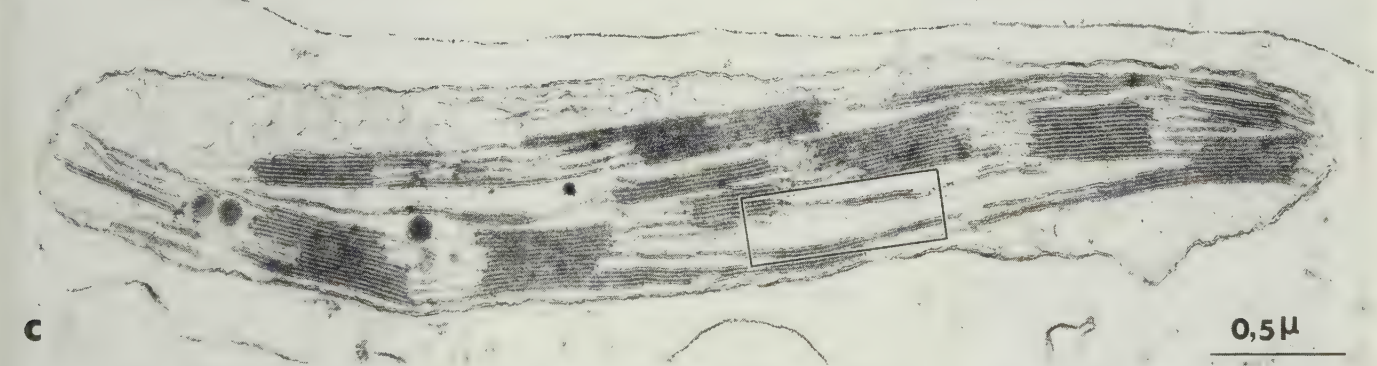
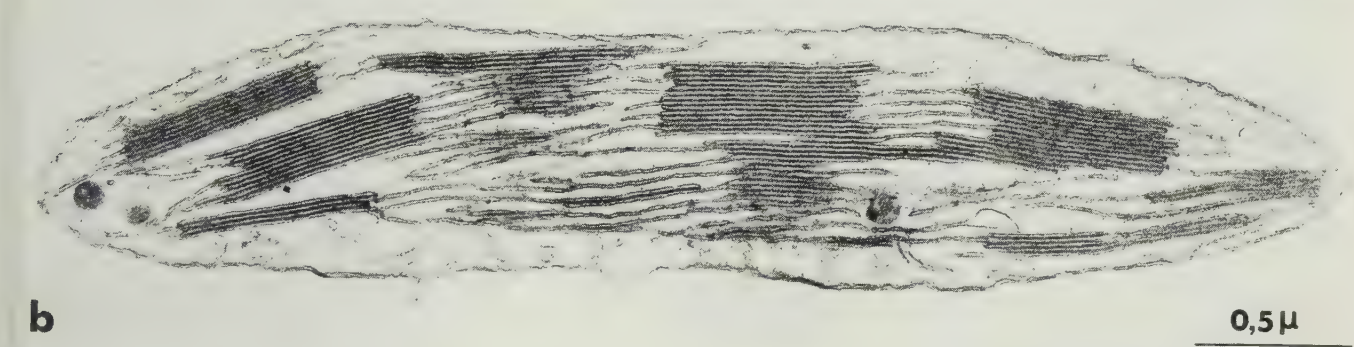
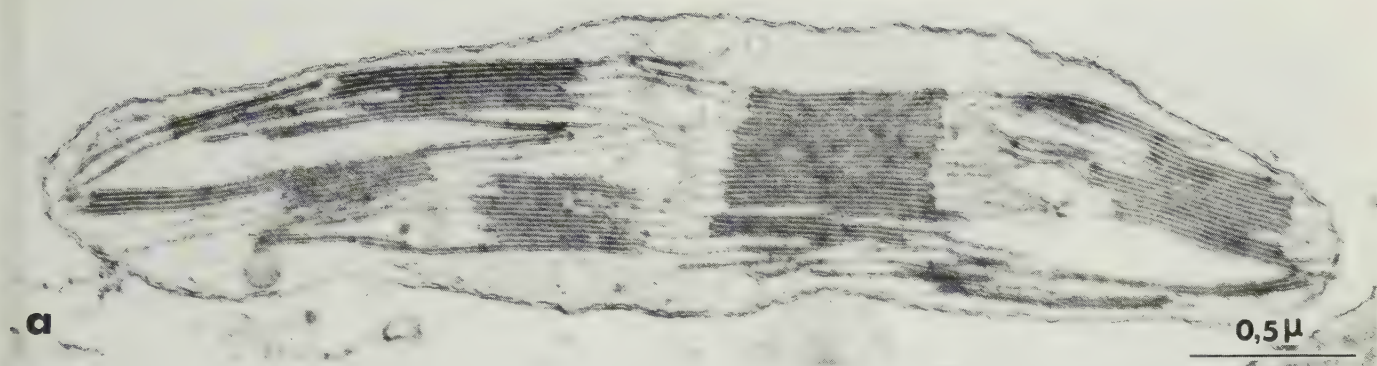
Fig. a, b, c - Dans ces chloroplastes du parenchyme cortical d'une tige de tabac (*Nicotiana tabacum* L), on reconnaît les constituants caractéristiques de tout chloroplaste : empilements de disques granaires formant les granums, lamelles intergranaires, stroma plus dense que le hyaloplasme de la cellule, globules osmiophiles et les deux membranes constituant l'enveloppe des plastes.

Fig. d - Ribosomes dispersés dans le stroma d'un chloroplaste d'un "pétale" vert de giroflée (*Cheiranthus (Erysimum) allionii* Hort).

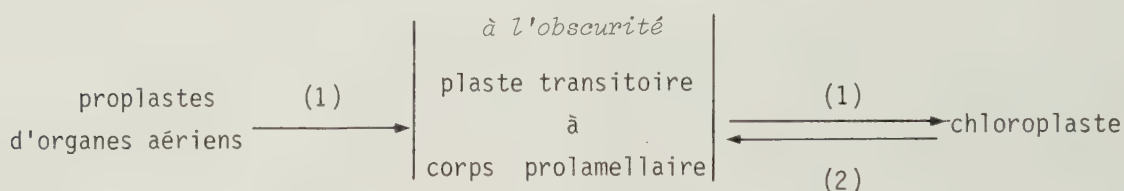
Fig. e - DNA condensé(et coagulé par les processus de fixation et déshydratation) du chloroplaste de la fig. c.

Fig. f - Des images comme celle-ci (appartenant à un chloroplaste de "pétale" vert de giroflée (voir planche 71), amènent à se demander comment se met en place le système des lamelles chlorophylliennes et combien y a-t'il de compartiment(s) dans ce système, autrement dit les thylakoïdes communiquent-ils entre eux et avec l'espace qui sépare les deux membranes de l'enveloppe plastidiale. Pour répondre à cela, il faudrait reconstituer totalement la structure tridimensionnelle de plusieurs chloroplastes. La difficulté de cette tâche explique la multiplicité des points de vue (Menke, 1960; Paolillo, 1970; Park et Sane, 1971).

(originaux non publiés)



Les corps prolamellaires sont des inclusions paracristallines membranaires ayant une existence transitoire dans des plastes en voie de devenir chloroplastes (mais évoluant à l'obscurité), ou bien dérivant de chloroplastes dans des organes également placés à l'obscurité.



Ces deux cas (1) et (2) sont illustrés, ici, dans la planche.

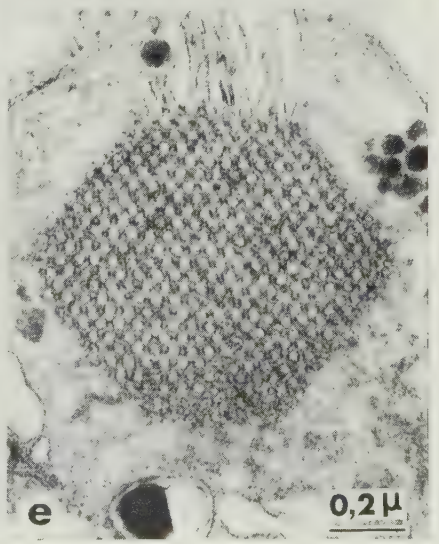
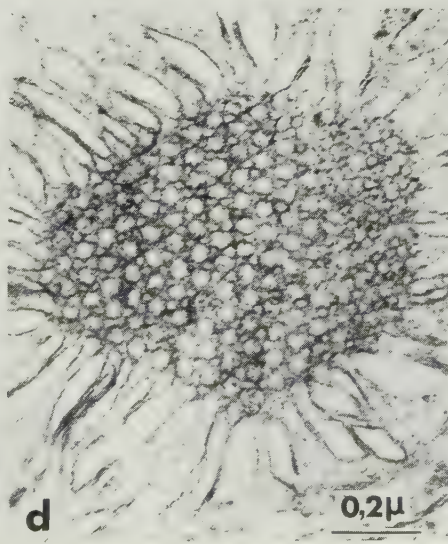
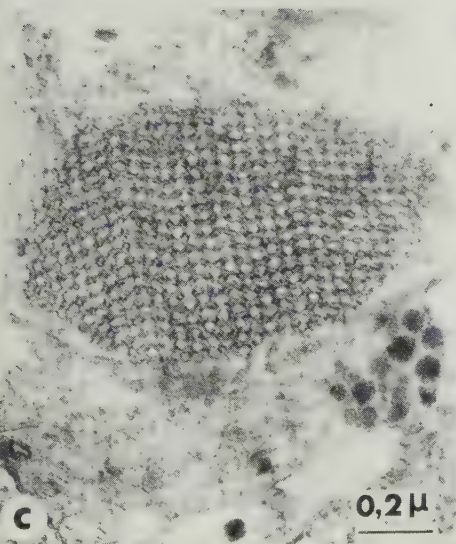
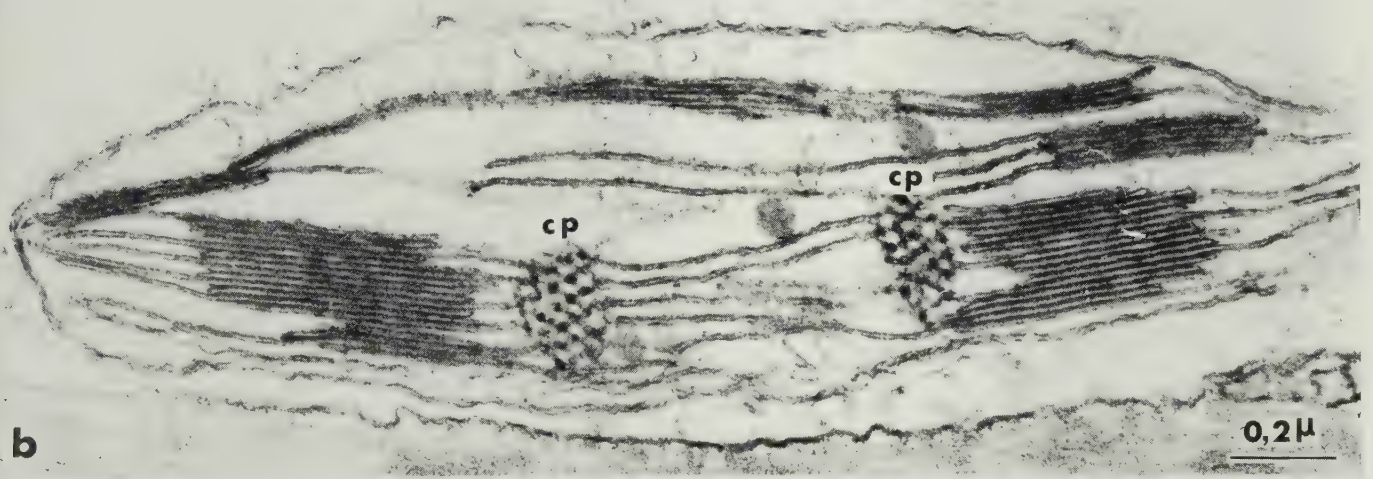
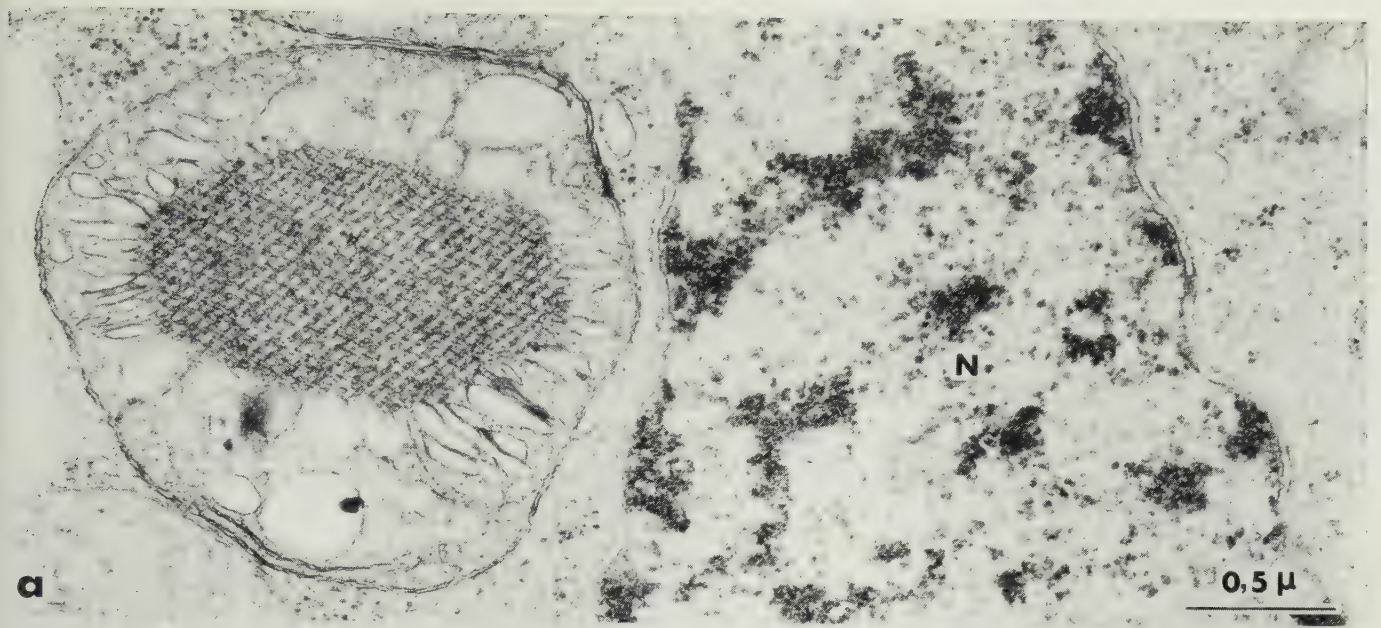
Les figures a, c, d et e montrent des corps prolamellaires dans les plastes du périanthe d'un bouton floral de *Narcissus pseudonarcissus* L., non encore ouvert. Ces corps prolamellaires sont en continuité, à leur périphérie, avec des lamelles qu'ils engendrent vraisemblablement. Dans ce cas il s'agirait d'une évolution vers le stade chloroplaste (flèches 1).

La figure b, montre un chloroplaste d'une tige de *Nicotiana tabacum* qui, ayant été conservé au réfrigérateur (et donc à l'obscurité) pendant quelques jours, a vu se former deux corps prolamellaires (au moins) à partir des lamelles intergranaires. Il s'agit donc là d'une évolution dans le sens 2.

Le fait que les corps prolamellaires se forment à l'obscurité dans les plastes, fait souvent désigner ceux-ci sous le nom d'étioplastes ou plastes étiolés. (Kirk dans Kirk et Tilney-Bassett, 1967).

Lorsque ces plastes sont remis à la lumière ils se transforment rapidement en chloroplastes. Les corps prolamellaires qui sont considérés comme des lieux d'accumulation de la protochlorophyllide, disparaissent en engendrant les lamelles chlorophylliennes (Lemoine, 1968; Buvat, 1969; Kirk et Tilney-Bassett, 1967; Trémolières, 1974).

(originaux non publiés)

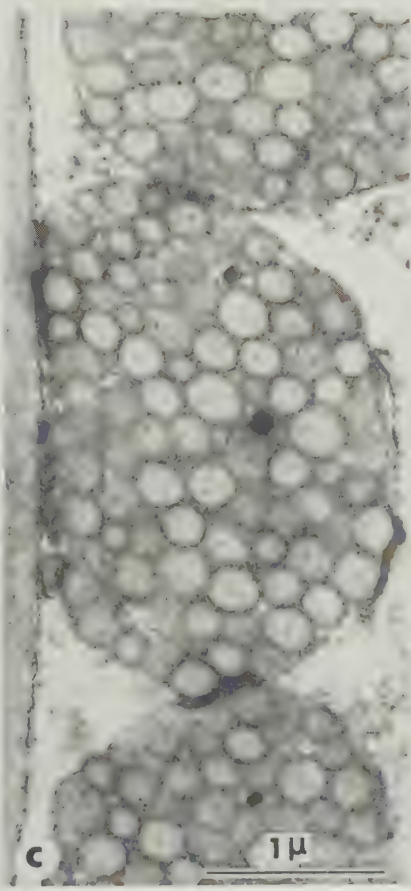
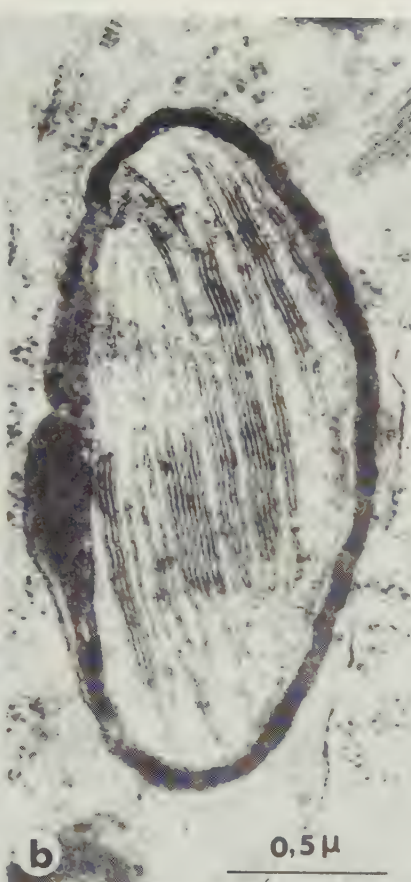


Dans les figures a et b (b est un agrandissement de a), il s'agit des chromoplastes de la couronne pigmentée en jaune de la fleur de jonquille (*Narcissus pseudonarcissus* L.). Ces chromoplastes contiennent sur leur pourtour, une couche osmiophile qui aurait la structure d'un enroulement myélinique comme cela a été clairement montré par Mollenhauer et Kogut (1968). Nos clichés ne nous ont cependant pas permis de voir une telle structure lamellaire. Il est vraisemblable que ceci tient à l'épaisseur -trop importante- des coupes. Mais il est également possible que les lipides constitutifs de cette couche osmiophile étaient sous la forme d'une phase isotrope et non pas sous la forme d'un cristal-liquide smectique lamellaire. Noter que cette couche pigmentée en jaune se forme dans des plastes qui possèdent encore un système de lamelles chlorophylliennes bien représentées.

Dans les figures c et d (c est un agrandissement d'une portion de d), les chromoplastes d'une hampe florale d'ail (*Allium oleraceum* L.) sont bourrés de globules sans doute très riches en β -carotène. Ces chromoplastes résultent de la sénescence automnale des chloroplastes du parenchyme cortical assimilateur de cet organe. Cette hampe florale était en effet de couleur jaune au moment de la fixation. Le cytoplasme des cellules est en voie de destruction complète.

Il existe de très nombreux autres types de chromoplastes dont la structure varie suivant la nature des composés lipidiques qu'ils accumulent. Ainsi, pourrait-on mentionner les chromoplastes de la carotte contenant les cristaux de carotène.

(originaux non publiés)

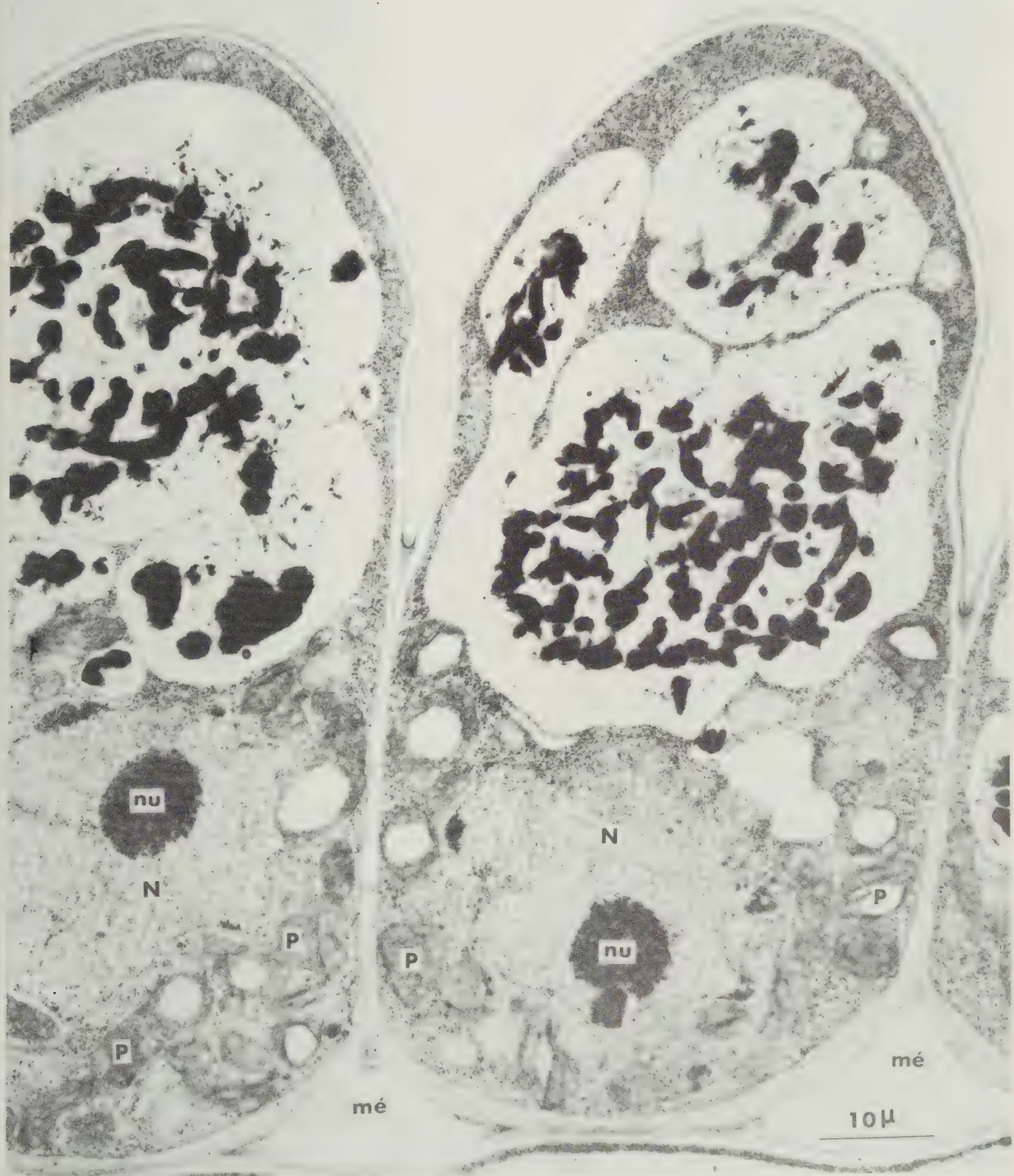


Cette vue, à faible grossissement, représente deux cellules de l'épiderme supérieur d'un pétale de giroflée (*Cheiranthus (Erysimum) allionii* Hort), au moment où celui-ci a encore une couleur jaune très pâle, marquant la transition entre la couleur verte qu'il possédait jusque là et la couleur jaune safran qu'il prendra plus tard. Noter la polarité des cellules et leur forme en dôme au pôle supérieur. Ce dôme est revêtu d'une cuticule lisse.

A ce stade de transition, les plastes de ces cellules épidermiques contiennent à la fois quelques lamelles chlorophylliennes résiduelles, un ou deux grains d'amidon et des globules clairs sans doute chargés de carotène qui, en se développant, donneront sa couleur au pétale.

N : noyau; nu : nucléole; P : plaste; mé : méat aérifère.

(original non publié)



Evolution des plastes au cours de la coloration définitive

à gauche

à droite

les éléments caractéristiques du
pétale jaune pâle

les éléments caractéristiques du péta-
le jaune safran

Fig. a - partie latérale du dôme d'une
cellule épidermique montrant la cuticu-
le lisse et le cytoplasme sous-jacent
encore bien représenté.

Fig. d - partie latérale du dôme d'une
cellule épidermique montrant la cuticu-
le épaisse et formant des replis; le cy-
toplasme sous-jacent ne forme plus qu'
une mince pellicule.

Fig. b - plastes situés au pôle basal
de la cellule épidermique. Dans ces
plastes coexistent des lamelles chloro-
phylliennes, des grains d'amidon et des
globules pigmentés.

Fig. e - partie basale d'une cellule
épidermique et vue partielle d'une cel-
lule du tissu interne. Dans la cellule
épidermique en haut, les chromoplastes
semblent s'être divisés en éléments
plus petits contenant des globules pig-
mentés volumineux. Dans la cellule du
tissu interne, le plaste occupe un vo-
lume mieux délimité; il contient des
lamelles membranaires et ses globules
sont beaucoup plus petits que ceux de
la cellule épidermique.

Fig. c - plaste à lamelles chlorophyl-
liennes et grain d'amidon volumineux,
dans une cellule du tissu interne.

Fig. f - autre exemple de chromoplaste
d'une cellule du tissu interne.

La structure des plastes illustrés dans cette planche nous permettra par
comparaison de comprendre comment se forment, dans la fleur de giroflée, les
pétales "verts" résultant de l'action des mycoplasmes dans cette plante.

P : plaste; a : amidon; g : globule de caroténoïdes; N : noyau; mé : méat;
V : vacuole.

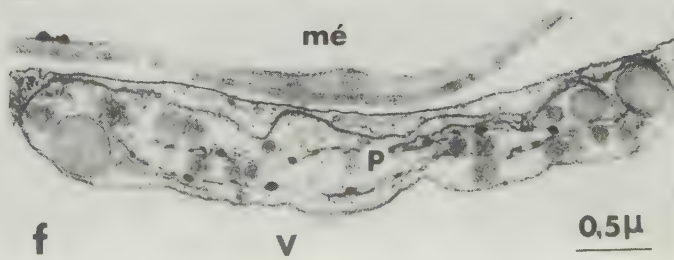
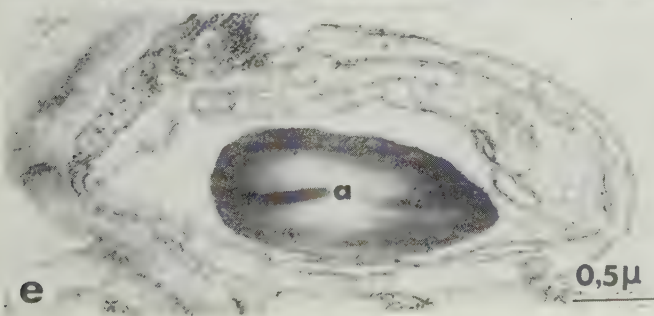
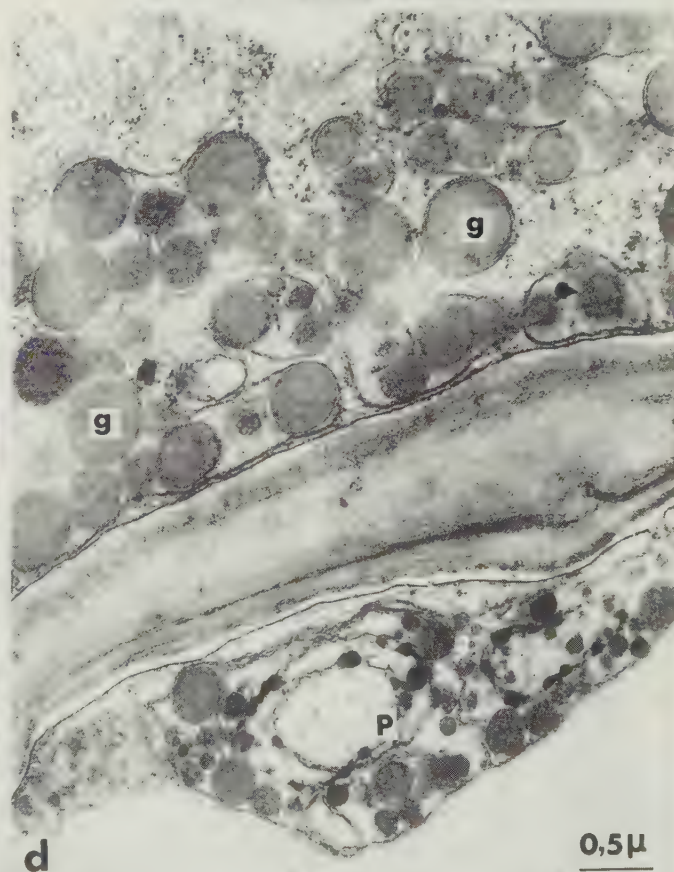
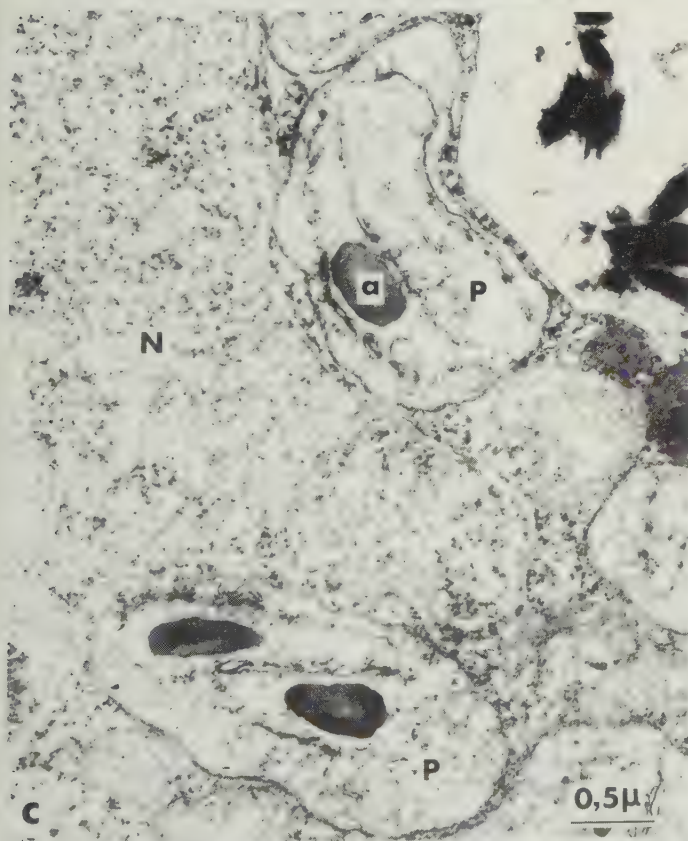
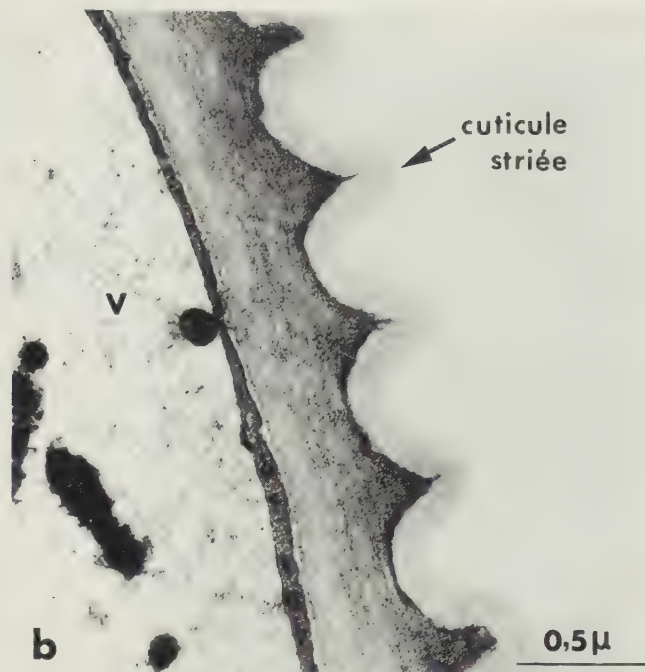
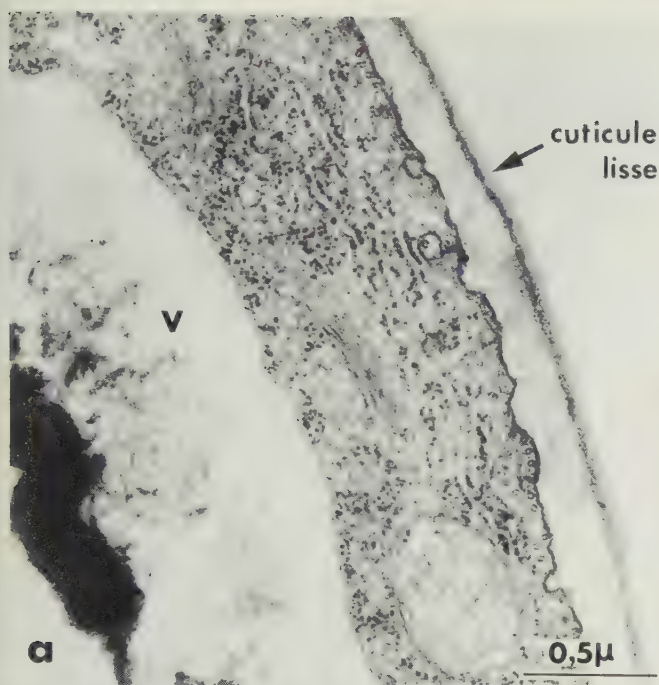


Fig. a - Dans cette cellule de l'épiderme supérieur d'un pétale jaune du bas de l'inflorescence d'une giroflée (*Cheiranthus (Erysimum) allionii* Hort. var. Jaune Naine Safran), infectée par des mycoplasmes, les chromoplastes ont gardé leur forme sphérique ou ovoïde (comparer avec la planche 70, fig. d).

Fig. b - Ce plaste a été observé dans le tissu interne d'un pétale montrant un début de virescence à mi-hauteur d'une inflorescence malade. Il possède à la fois des thylakoïdes (t) organisés en granums et de nombreux globules (g) de diverses tailles (comparer avec la planche 70, fig. e et f).

Fig. c - Il s'agit ici d'un véritable chloroplaste formé dans le tissu interne (véritable mésophylle) d'un "pétale" vert situé plus haut dans l'inflorescence virescente de la giroflée infectée par les mycoplasmes.

En résumé, les mycoplasmes favorisent le développement ou le maintien en activité du système des lamelles chlorophylliennes, au détriment des globules qui donnent la pigmentation définitive dans le pétale normal.

(Gourret et Le Normand, *J. Microscopie*, 12, 151-156, 1971)

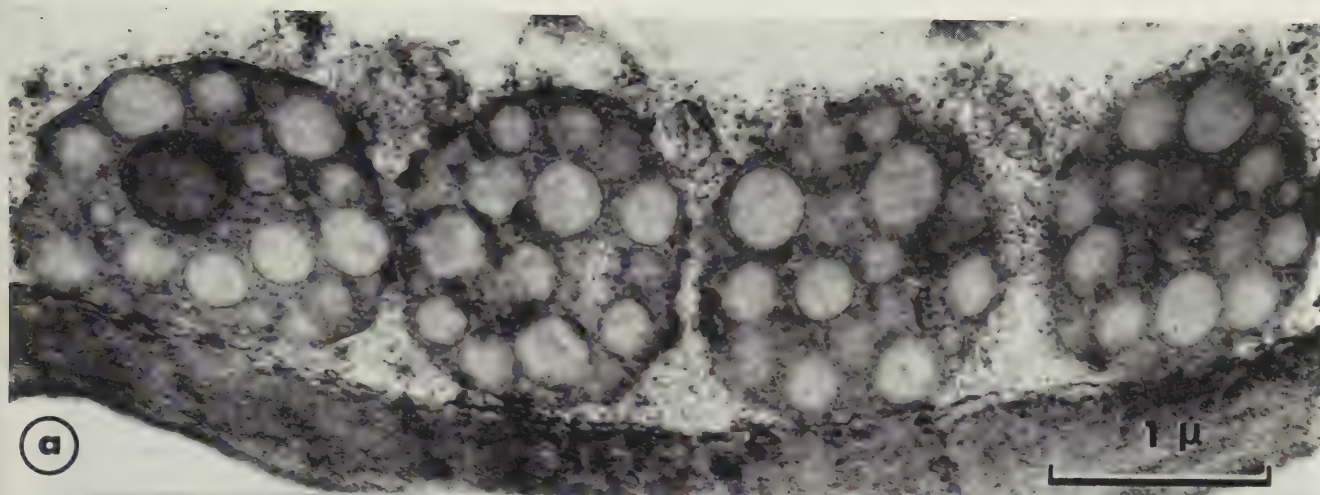


Planche 72 Les PLASTES des "pétales" verts de *Vinca rosea* L. infectée par des MYCOPLASMES

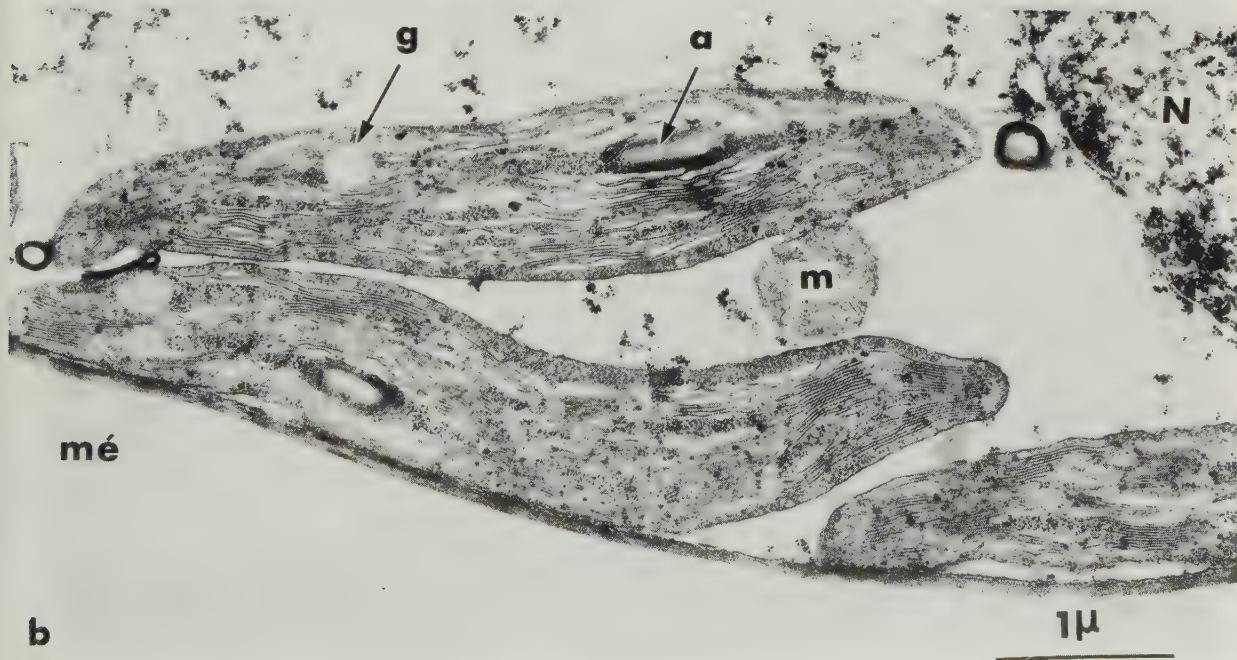
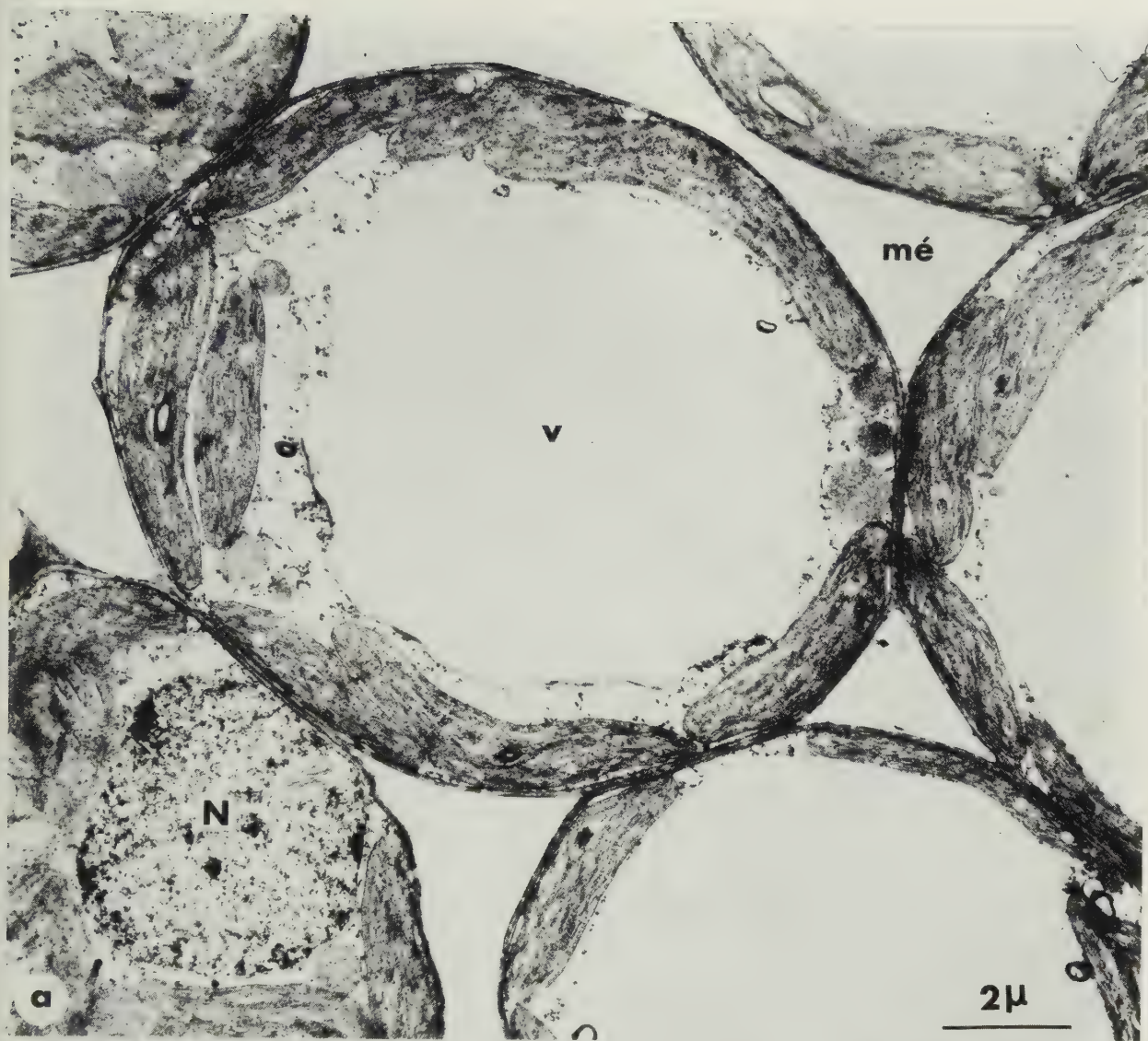
Ici encore, les "pétales" verts sont dus au développement des lamelles chlorophylliennes dans les plastes des cellules du tissu interne. Au lieu de régresser comme cela se passe dans les pétales normaux, les plastes des ébauches de pétales se différencient en chloroplastes typiques.

Fig. a - Coupe dans un plan parallèle à la surface du pétale mais passant par les cellules du parenchyme chlorophyllien palissadique.

Fig. b - Détail, à plus fort grossissement, des chloroplastes de ces cellules.

a: amidon; g: globule de caroténoïdes; m: mitochondrie; N: noyau; mé: méat aérifère.

(Gourret, *Physiol. Vég.*, 9, 583-594, 1971)



Lorsqu'une pervenche (*Vinca rosea* L.) -tout comme de nombreuses autres plantes- a été infectée pendant un temps assez long (plusieurs semaines, voire même plusieurs mois), les feuilles perdent progressivement leur pigmentation verte et passent par une teinte jaune de plus en plus pâle. Elles peuvent même devenir blanches avant de se nécroser en prenant alors une couleur brune.

Les figures montrent les plastes de ces feuilles jaune-pâle.

Fig. a, b - Ces plastes d'une cellule de mésophylle, qui ne montrent pratiquement plus de lamelles chlorophylliennes, contiennent par contre des grains d'amidon importants par rapport au volume des plastes, et de nombreux globules (g). Noter qu'en dehors des plastes, le cytoplasme périphérique des cellules est particulièrement réduit. Le tonoleme de la cellule peut s'invaginer (i) en même temps que les membranes enveloppes du plaste, à l'intérieur du stroma de celui-ci, en y formant une inclusion membranaire (m).

Fig. c - Dans cette cellule, au contenu très altéré, transparent aux électrons, le tonoleme, les ribosomes cytoplasmiques et le stroma des plastes ont disparu. Les thylakoïdes sont souvent gonflés et les membranes plastidiales rompues en plusieurs endroits.

a: amidon; "cyt": hyaloplasme lysé de la cellule.

(Gourret, *Physiol. Vég.*, 9, 583-594, 1971)

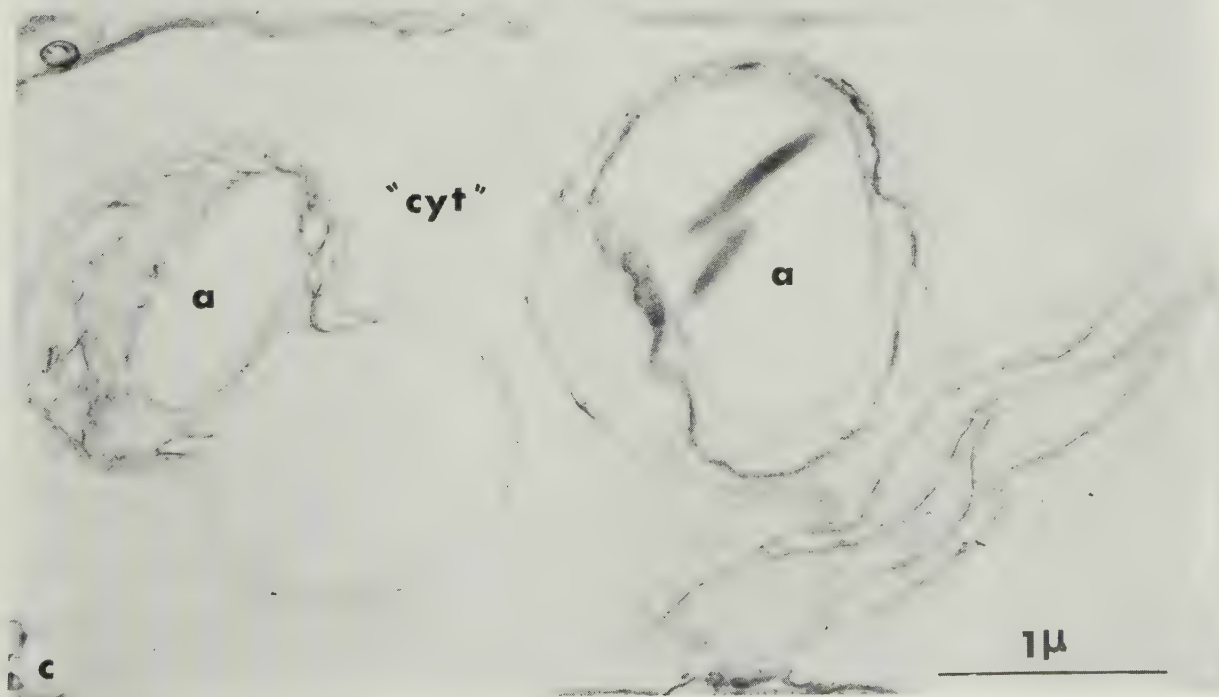
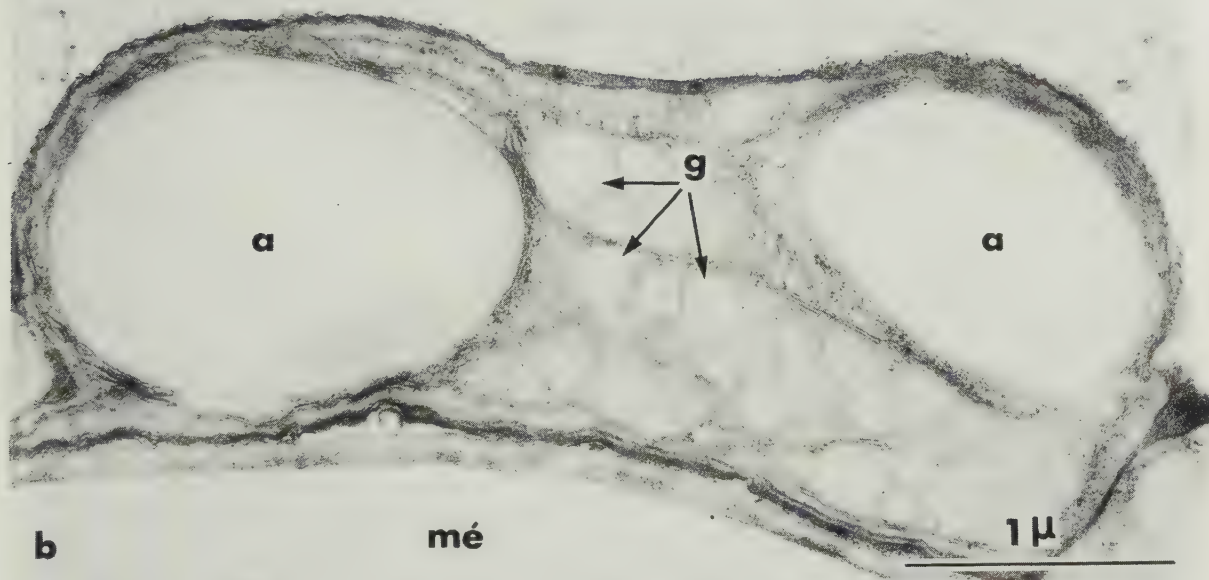
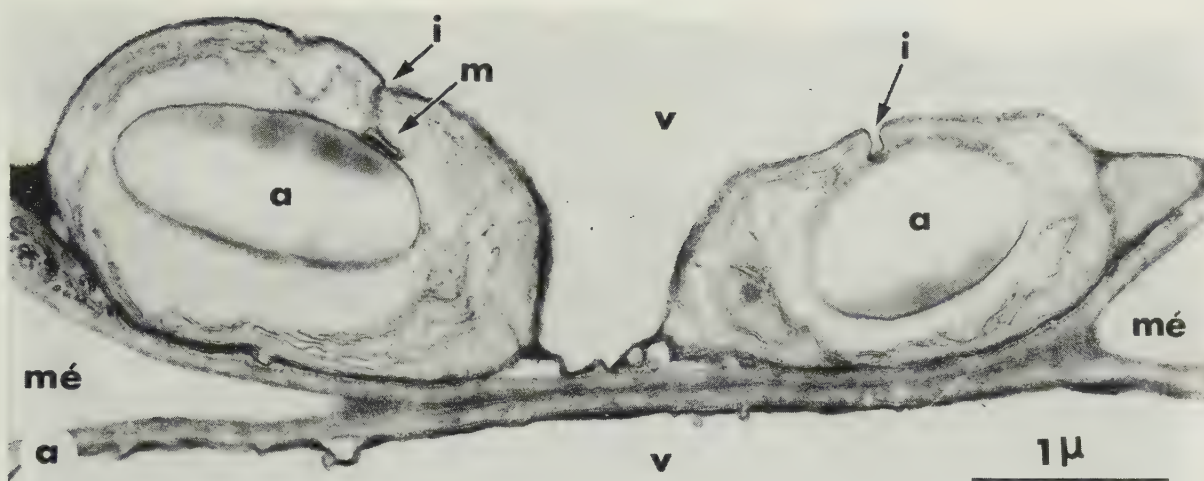


Fig. a - Cellules bordante d'un canal résinifère d'une tige de douglas (*Pseudotsuga menziesii* Mirb.).

Fig. b - Vue partielle d'une cellule bordante d'un canal résinifère d'une tige de cèdre (*Cedrus libani* G. Don). Le regroupement des plastes est ici décelable en particulier au niveau de ceux qui sont marqués (1,2,3,4).

Fig. c - Vue partielle d'une cellule bordante d'un canal résinifère d'une tige de pin (*Pinus sylvestris* L.).

Fig. d, e - Détails des plastes d'une cellule bordante d'un canal résinifère d'une tige de pin (*Pinus sylvestris* L.).

Ces plastes peuvent être appelés leucoplastes étant donné qu'ils ne contiennent aucune inclusion nettement apparente. Ils possèdent un stroma dense parcouru seulement par quelques lamelles et quelques vésicules. En plus de la tendance qu'ils ont à se regrouper, le trait caractéristique des plastes de cellules glandulaires c'est leur association avec des cavités du reticulum endoplasmique (Fig. b,c,d,e). Les figures d et e, montrent que ce reticulum est lisse du côté du plaste et granulaire sur la face opposée. Cette disposition suggère que les plastes jouent un rôle important dans le processus de la sécrétion.

P : plaste; N : noyau; RE : réticulum endoplasmique.

(originaux non publiés)

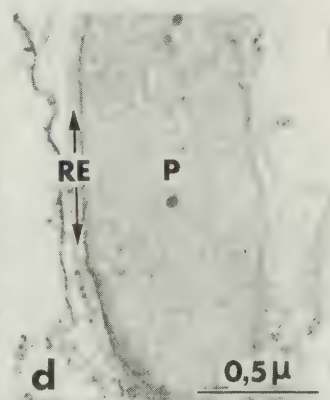
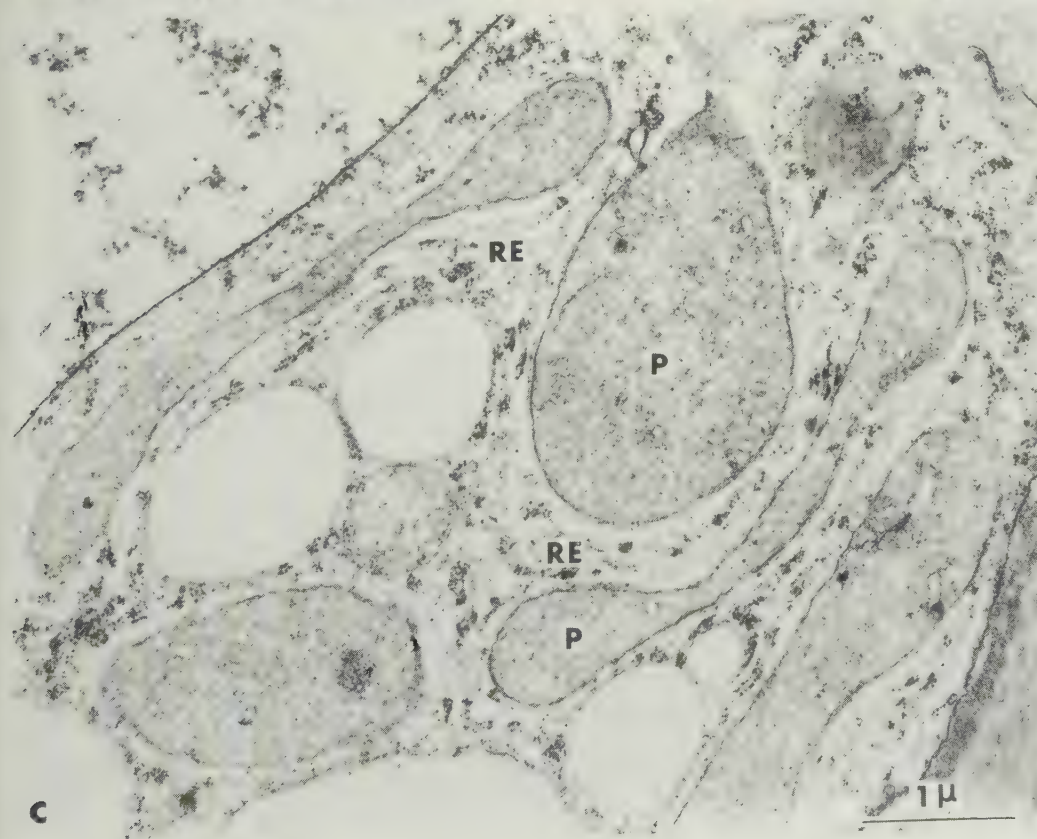
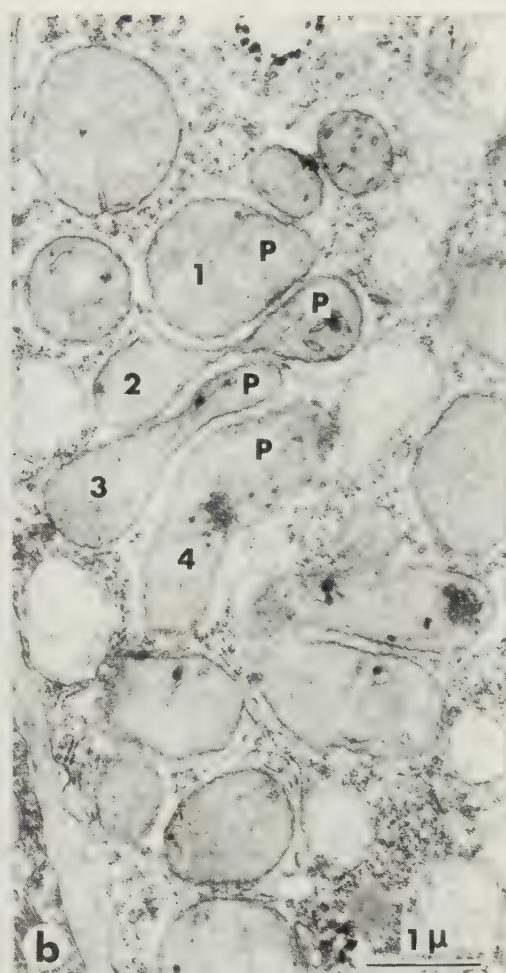
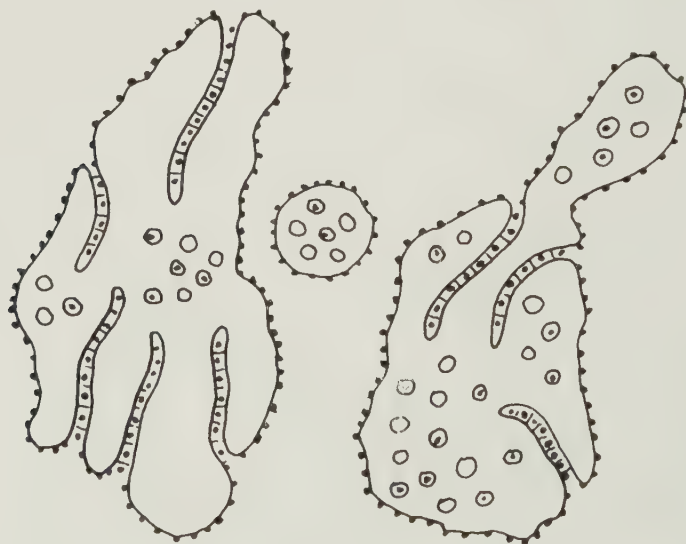


Fig. a - Vue partielle d'une cellule d'un poil glandulaire multicellulaire, de la base des pétioles de *Vinca rosea* L. Cette figure montre le groupement des plastes formant un amas dans la cellule. Noter le cytoplasme très riche en ribosomes. Ces poils, qui se dessèchent progressivement par leur base, excrètent un liquide sirupeux.

Fig. b et c - Vues partielles d'une cellule glandulaire du tissu hyalin d'un pseudo-nodule racinaire de *Melampyrum pratense* L. Dans ce cas le regroupement du plastidome en une sorte de rosette est particulièrement spectaculaire. De plus, le reticulum endoplasmique associé à ces plastes, montre une différenciation curieuse (Fig. b). L'étude comparative de plusieurs coupes suggère que les inclusions visibles dans les



cavités de ce reticulum sont des tubules membranaires invaginés dans les cavités et englobant des ribosomes. P : plaste; RE : reticulum endoplasmique; N : noyau; nu : nucléole.

Ces pseudo-nodules ne contiennent ni symbiote, ni parasite. L'ultra-structure de ces cellules suggère que ces organes seraient des glandes jouant vraisemblablement un rôle dans l'hémi-parasitisme qui caractérise *Melampyrum* ainsi que les autres *Rhinanthaceae*.

(Fig. a, original non publié)

(Fig. b et c, Strullu et Gourret, résultats originaux non publiés)

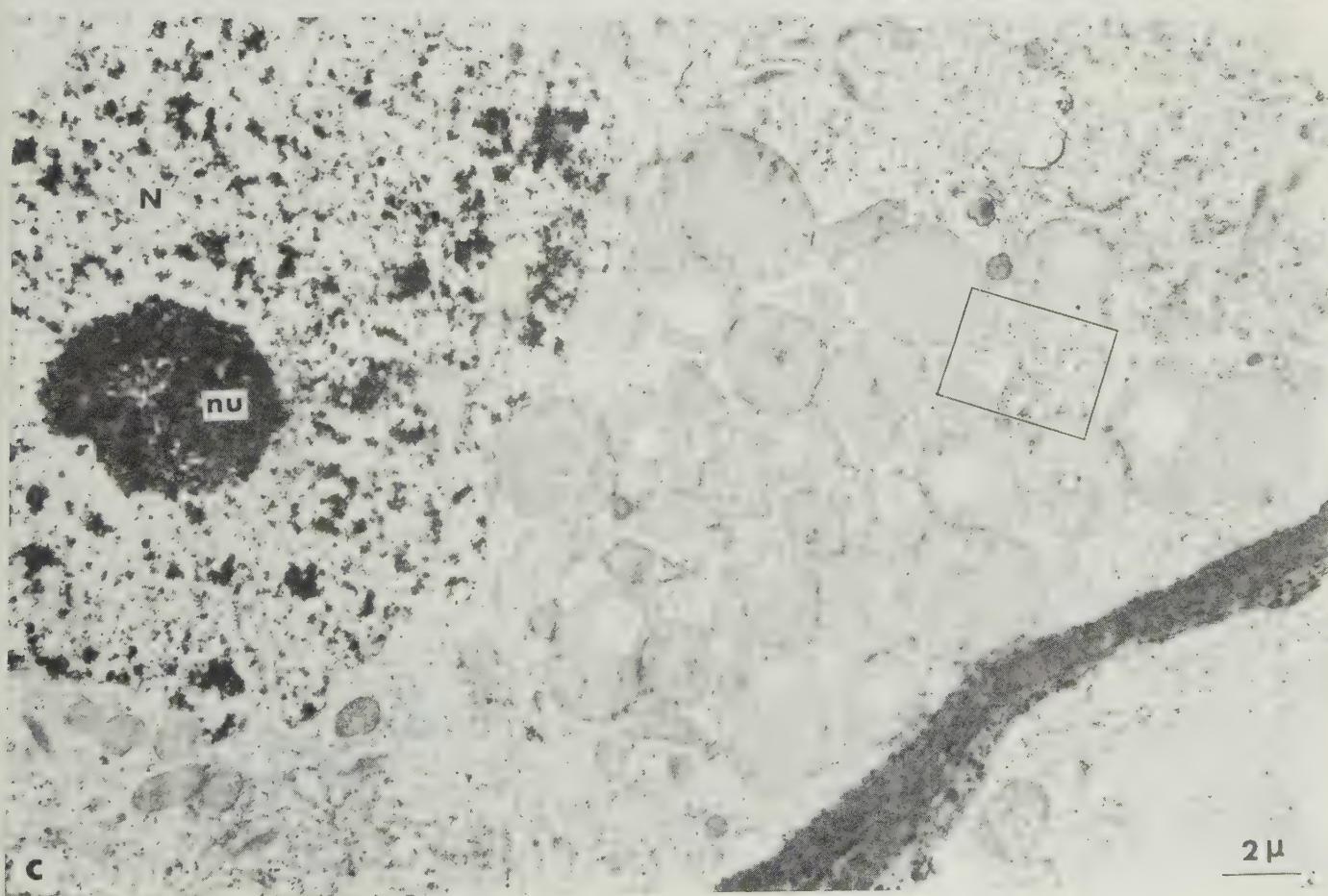
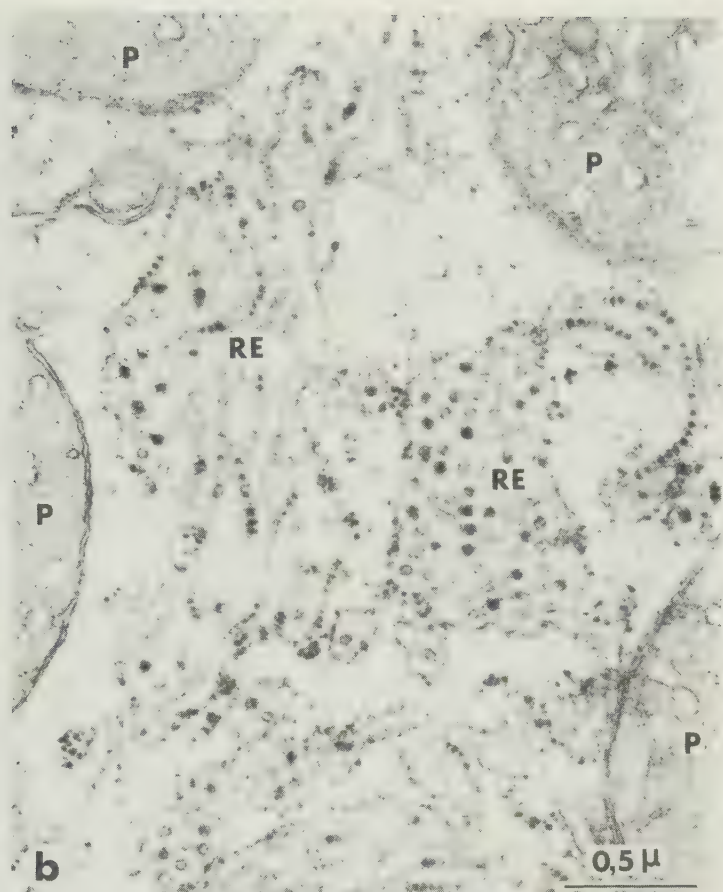


Fig. a, c, d : *Orchis maculata* (L) Verm

Fig. b, e : *Melandrium album* Garcke

Des protéoplastes, c'est-à-dire des plastes dont le contenu le plus évident est constitué d'inclusions protéiques, se rencontrent dans la lignée des éléments criblés du phloème de Phanérogames appartenant à des taxons bien précis dont les plus importants sont les Monocotylédones, les Caryophyllales à l'intérieur des Dicotylédones et les *Abietaceae* à l'intérieur des Gymnospermes.

Fig. a - Ces plastes du phloème d'*Orchis maculata* se trouvent à l'intérieur d'un tube criblé (T). Ils contiennent des inclusions protéiques cunéiformes (cr).

Fig. c - Ces inclusions cunéiformes se sont rassemblées au voisinage d'un criblé.

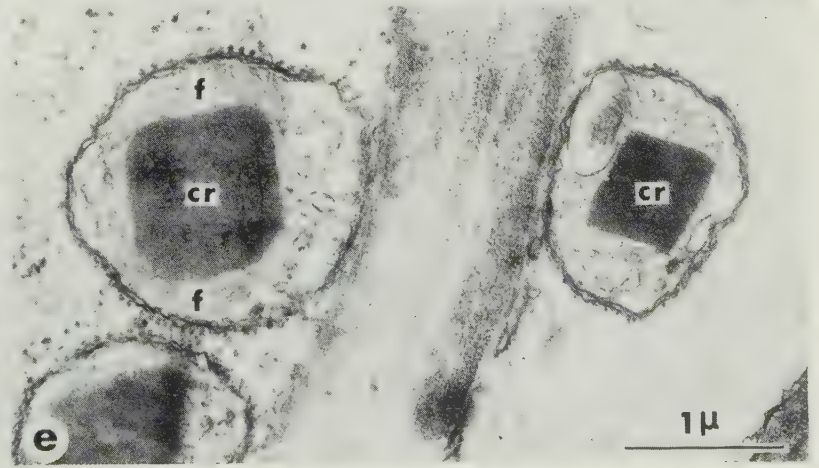
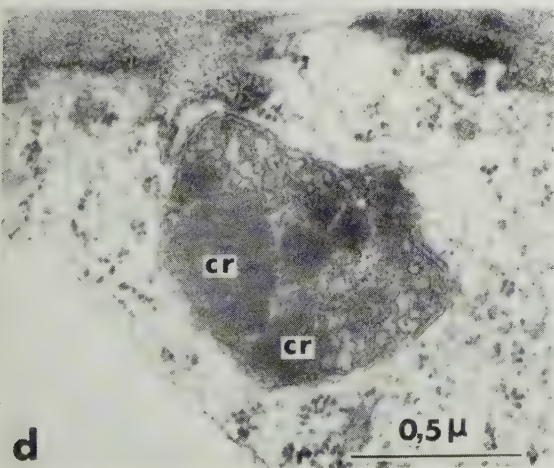
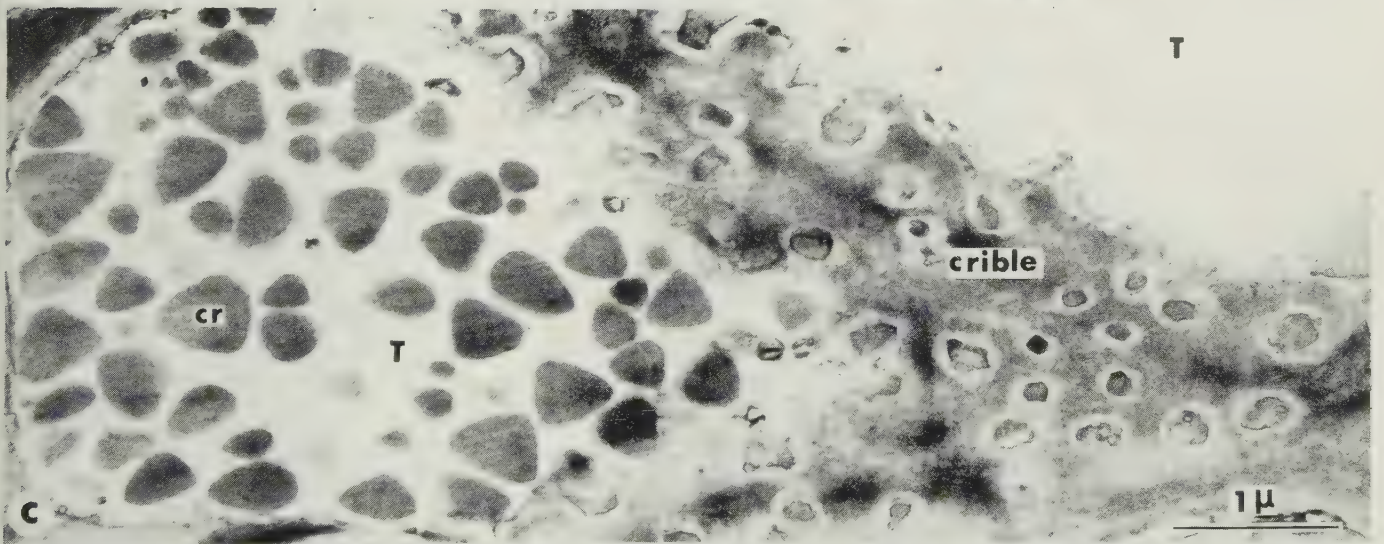
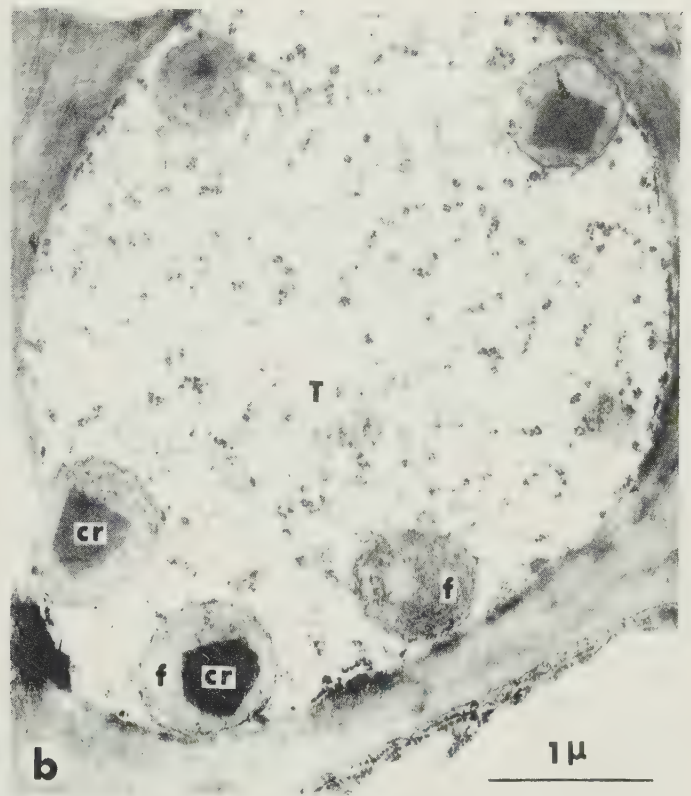
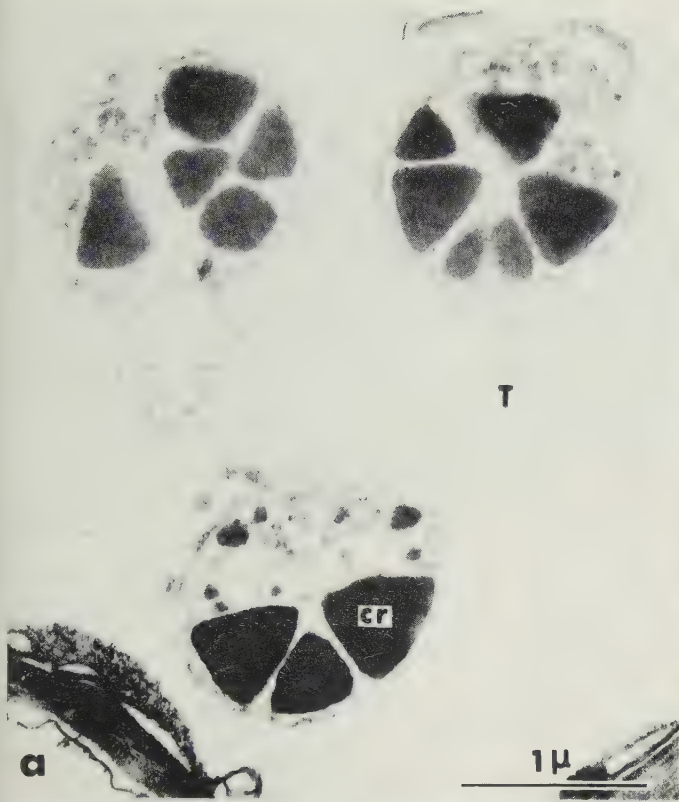
Fig. d - Le plaste qui se trouve à l'intérieur d'une cellule en voie de différenciation vers le stade tube criblé, montre l'accumulation des protéines dans son stroma.

Fig. b et e - Les plastes du phloème des Caryophyllales —groupe auquel le genre *Melandrium* appartient— contiennent généralement un cristal (cr) au centre du plaste et un arc ou un anneau fibreux (f) en position périphérique.

Les premières observations relatives à ce groupe ont été réalisées par Esau (1965, 1969), puis généralisées à l'ensemble du groupe par Behnke et Turner (1971), Behnke (1972).

Les figures b et e de cette planche ont été réalisées à partir de la même coupe que la figure a de la planche 7. Dans cette coupe, les protéoplastes avoisinaient des mycoplasmes.

(originaux non publiés)



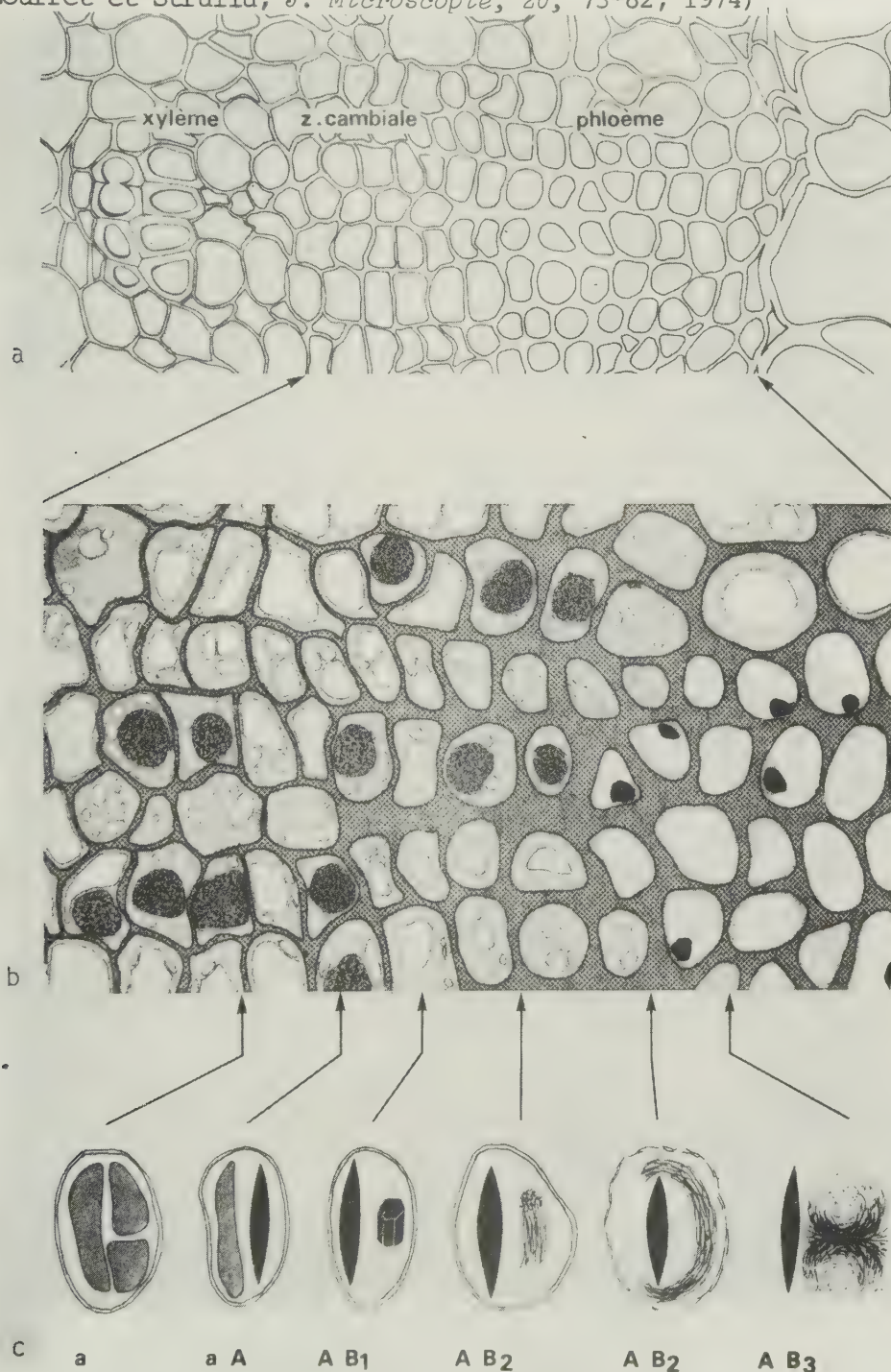


Fig. 10 - a. Dessin schématique d'un faisceau conducteur de jeune pousse de *Pseudotsuga menziesii*. Toutes les cellules des files radiales du métaphloème de ce faisceau ont des parois épaissies et appartiennent à la lignée des éléments criblés. b. Représentation schématique du phloème du même faisceau. c. Schéma de l'évolution des protéoplastes. Les flèches renvoient approximativement aux cellules où se rencontrent les différents stades d'évolution des protéoplastes. Les quatre planches (77 à 80) concernent successivement des cellules de plus en plus externes dans les files radiales du métaphloème.

- Fig. a - Plaste amylofère dans une cellule à la limite de la zone cambiale et des cellules proconductrices. Cette cellule très peu différenciée est limitée par une paroi mince (P).
- Fig. b - Dans ces cellules en début de différenciation, la paroi montre un épaissement aux angles. Les plastes amylofères contiennent en plus une inclusion dense, de forme elliptique, pouvant être tronquée (plaste de droite). Cette inclusion qui se retrouvera sous la même forme dans les cellules suivantes jusqu'aux éléments criblés, est notée A.
- Fig. c - Dans cette cellule, plus éloignée de la zone cambiale, les plastes ne contiennent plus de grains d'amidon. A côté de l'inclusion A, apparaît une autre inclusion dense B1.

(Gourret et Strullu, *J. Microscopie*, 20, 73-82, 1974).

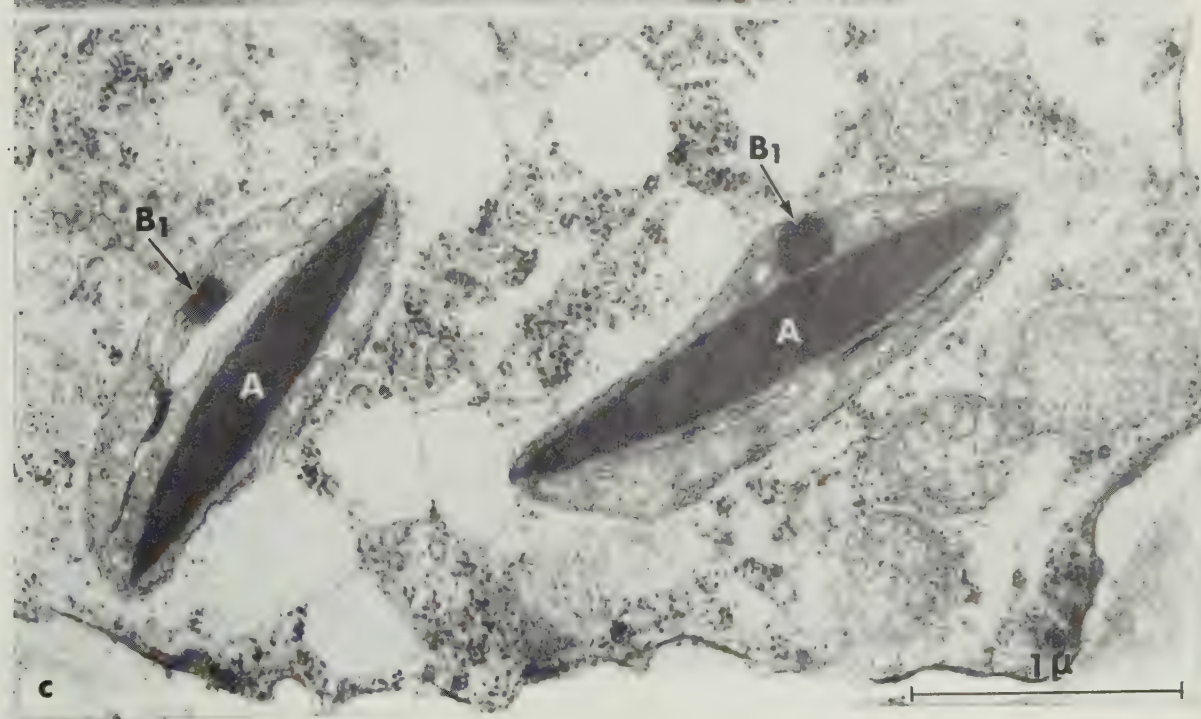
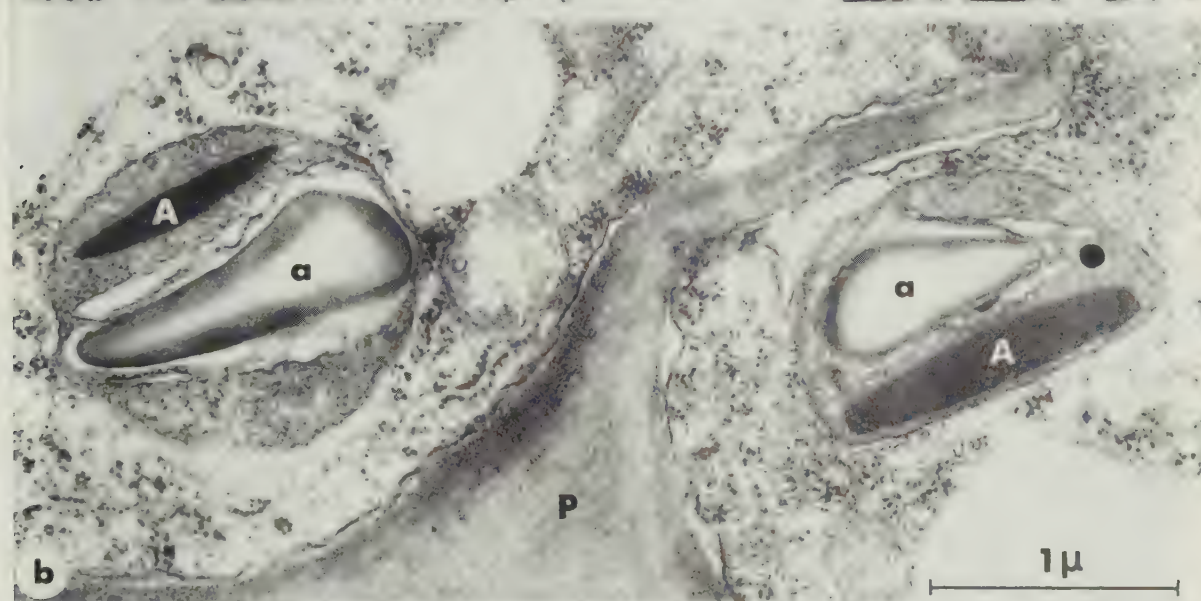
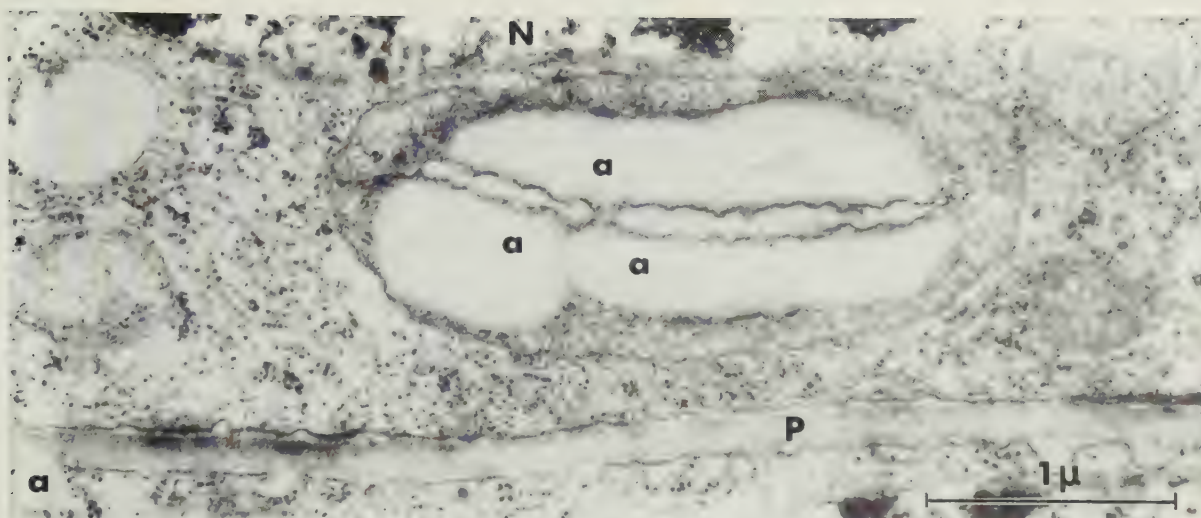


Fig. a - Coupée transversalement, l'inclusion A a la même forme qu'une section de lentille biconvexe. L'inclusion B1 a la forme d'un hexagone irrégulier en coupe transversale.

Fig. b - Coupe transversale de l'inclusion A.

Fig. c - La striation transversale de l'inclusion A.

Fig. d - L'inclusion B1 "s'effiloche" au niveau des faces indiquées par des flèches.

Fig. e - Inclusions A et B1 en coupe longitudinale.

Fig. f - Inclusion B1 exceptionnellement développée et qui déforme les membranes limitant le plaste.

Fig. g - Agrandissement de la figure précédente montrant la striation de l'inclusion B1.

Fig. h, i, j - Digestion des inclusions suivant la technique utilisée par Anderson et André (1968). Des coupes fines recueillies sur grilles collodionnées ont d'abord été oxydées par immersion dans l'eau oxygénée à 10% pendant 20 mn. Après rinçage, elles ont été soumises à l'action de la pronase (solution à 0,1% dans l'eau, pH 7,4) pendant 30 mn à la température de 37°.

Dans la figure i, la coupe a été contrastée; dans les figures h et j, les coupes sont observées sans contraste. On voit que les deux inclusions A et B1 sont digérées.

(Gourret et Strullu, *J. Microscopie*, 20, 73-82, 1974)

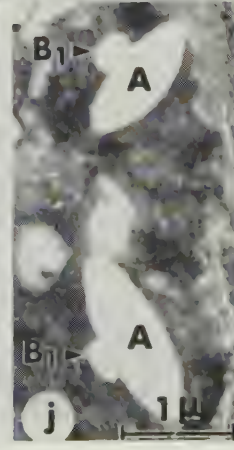
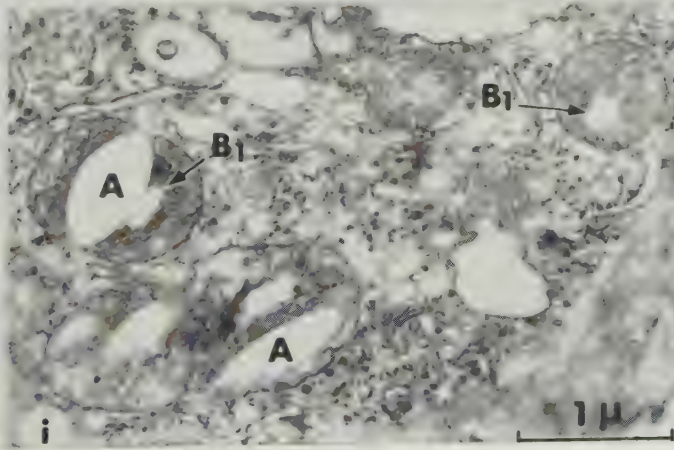
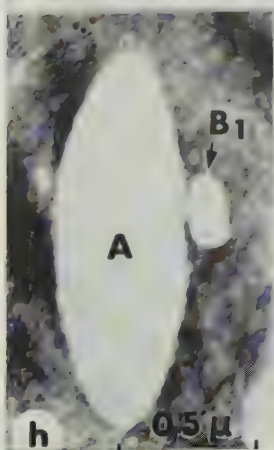
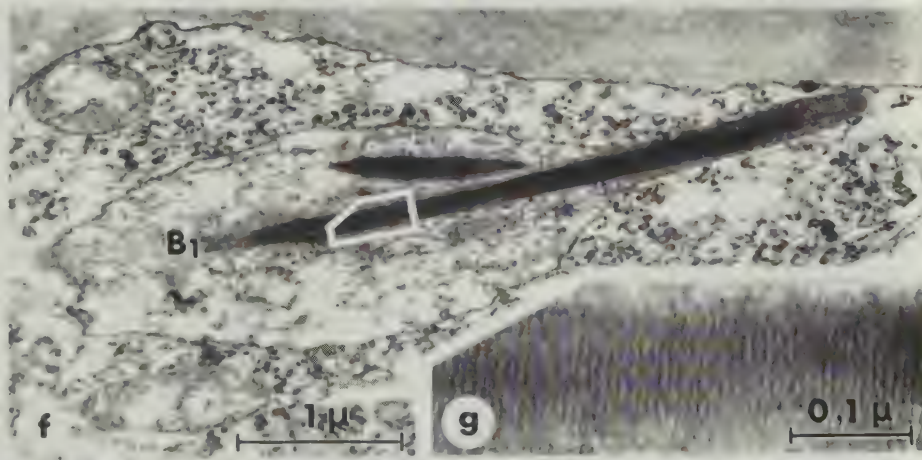
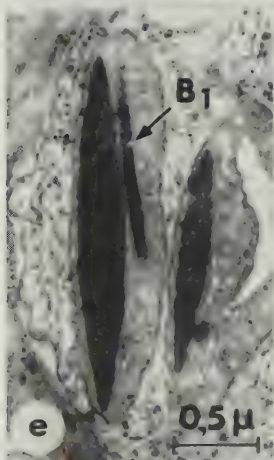
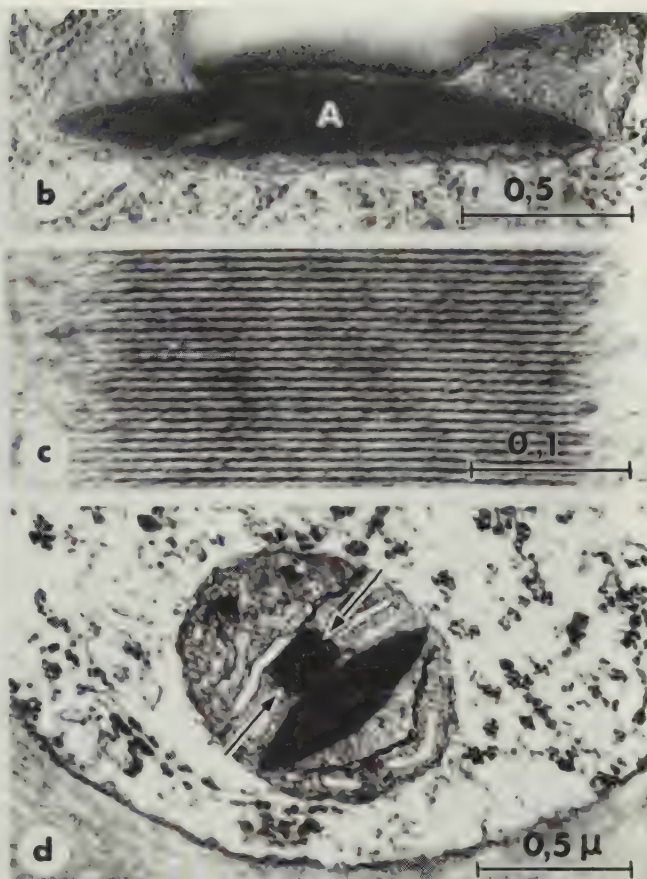
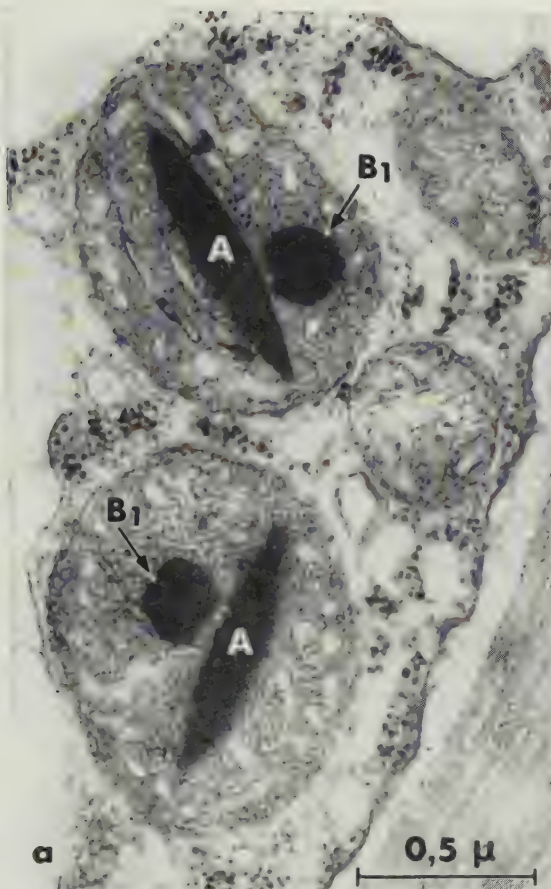


Fig. a, b - Dans ces cellules aux parois très épaissies, mais dont le cytoplasme semble encore peu dégradé, l'inclusion B2 qui apparaît complètement fibreuse, s'est gonflée et arquée de sorte que deux sections transversales (ou obliques) peuvent exister dans un même plaste.

Fig. c - Le plaste commence à se désorganiser. L'inclusion A garde sa structure mais l'inclusion B2 est très large. Un peu d'amidon, des restes de vésicules et des empilements de lamelles (flèche) sont visibles. Les membranes limitant le plaste se désorganisent.

(Gourret et Strullu, *J. Microscopie*, 20, 73-82, 1974)

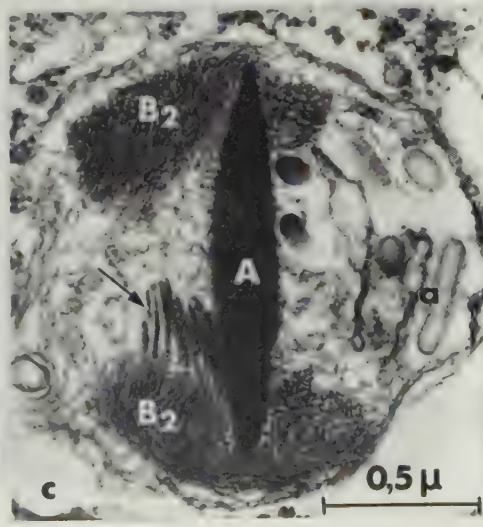
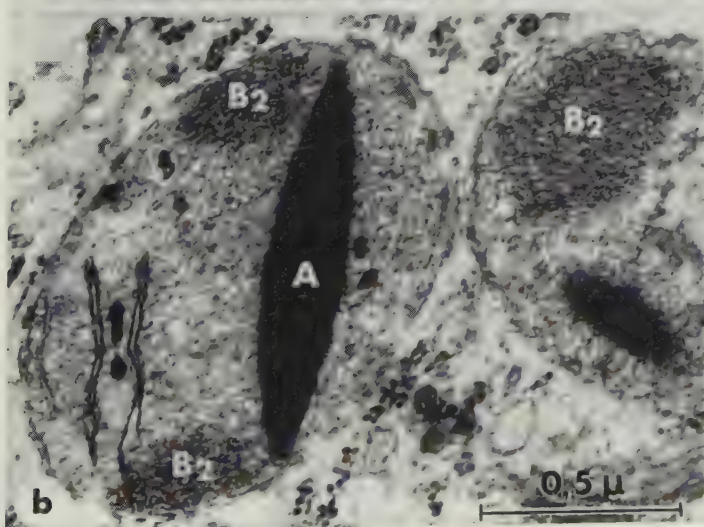
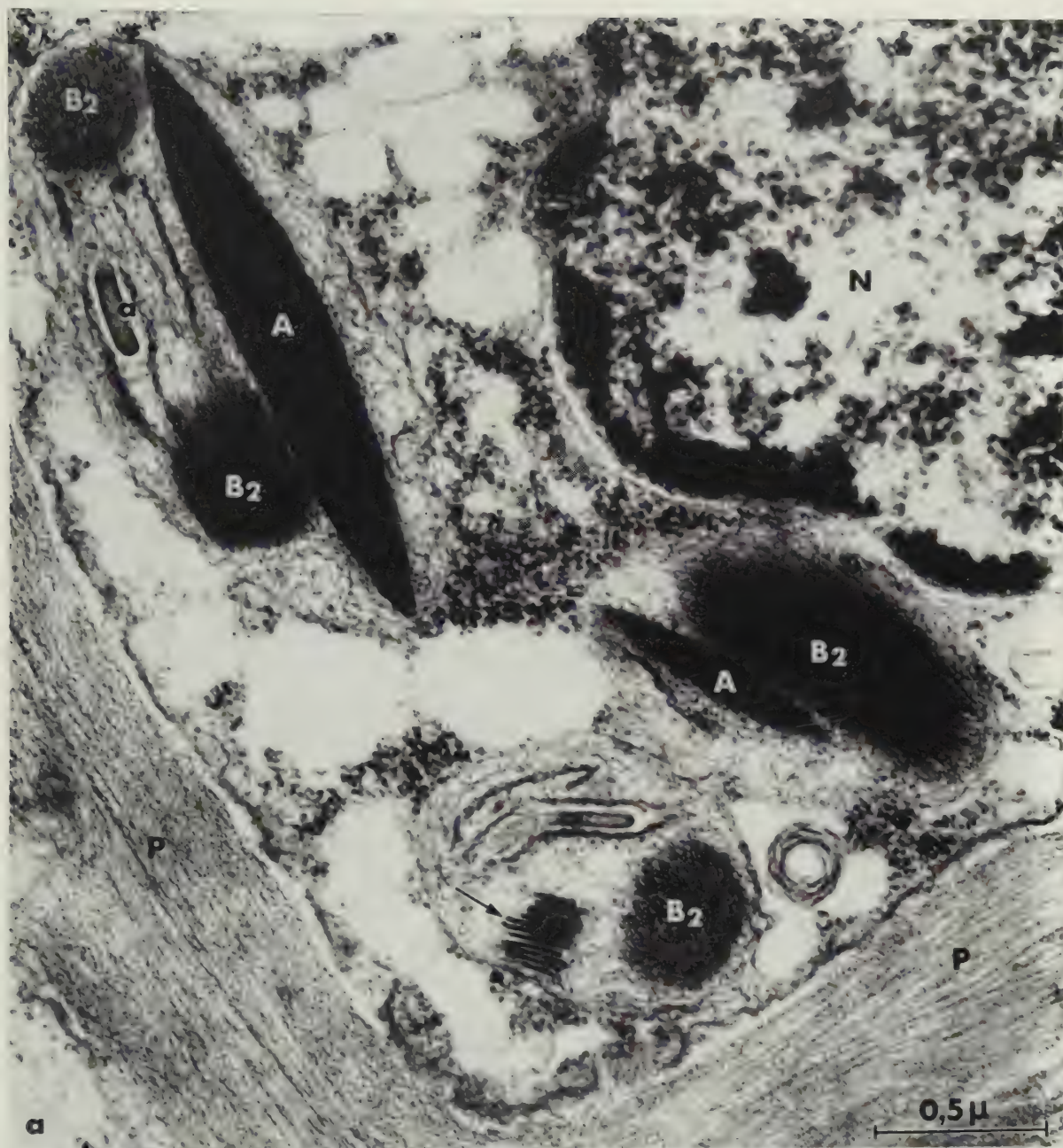
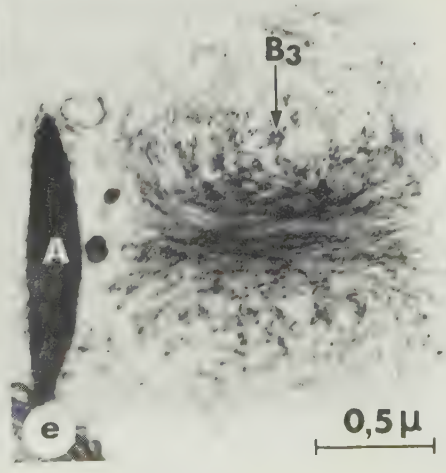
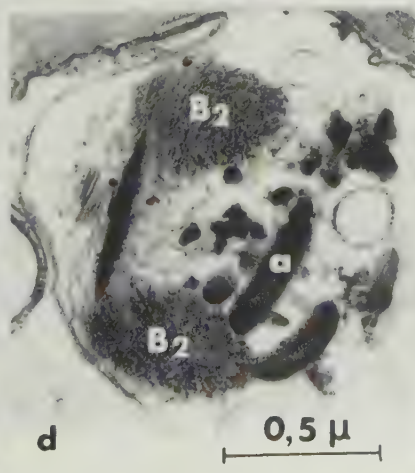
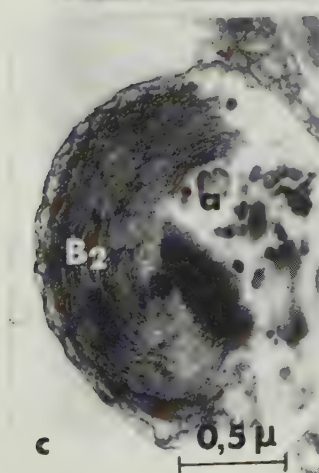
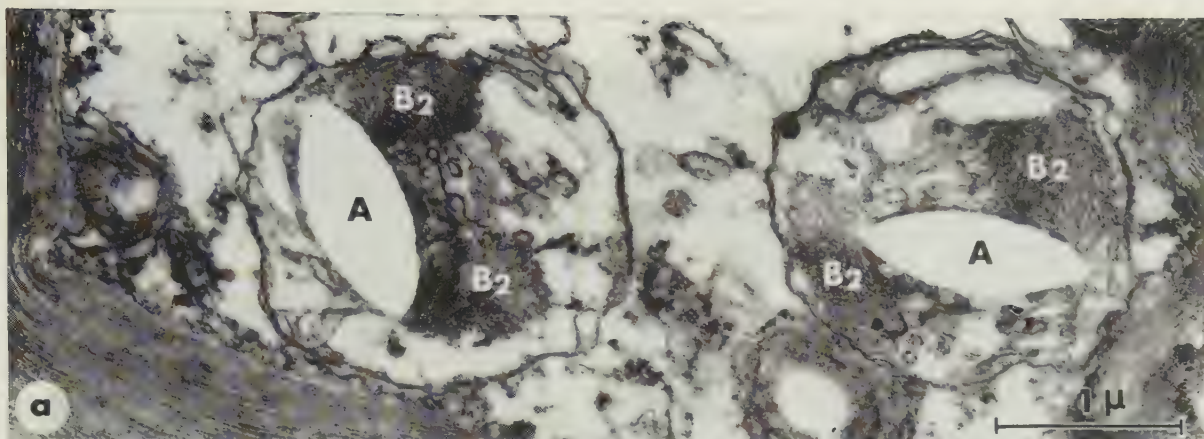


Fig. a - Action de la pronase. Seule l'inclusion A est digérée. Les fibres de l'inclusion B2 ne le sont pas.

Fig. b - Deux éléments criblés, au cytoplasme dégradé et au noyau pycnotique, contiennent des restes de plastes et des "tourbillons" fibreux qui correspondent à l'inclusion B sous sa forme B3 globuleuse, la plus lâche et la plus expansée. Les parois épaissies sont bien visibles dans ce cliché.

Fig. c, d, e - Restes de plastes en cours de désorganisation dans les éléments criblés. L'inclusion A conserve sa forme, alors que l'inclusion B3 est très lâche et très gonflée.

(Gourret et Strullu, *J. Microscopie*, 20, 73-82, 1974).

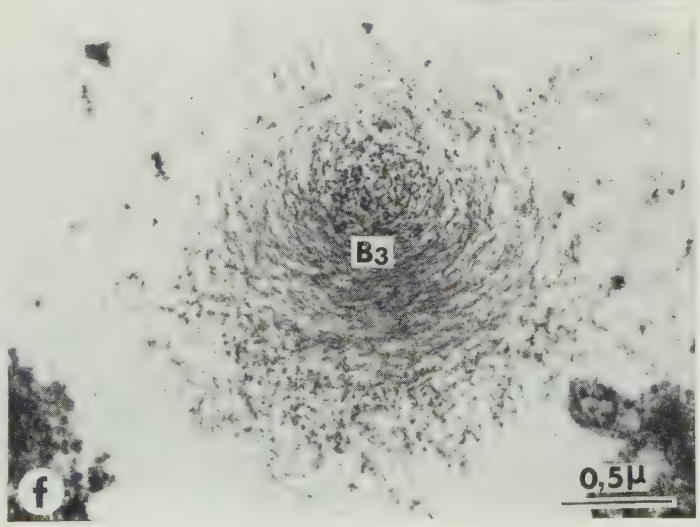
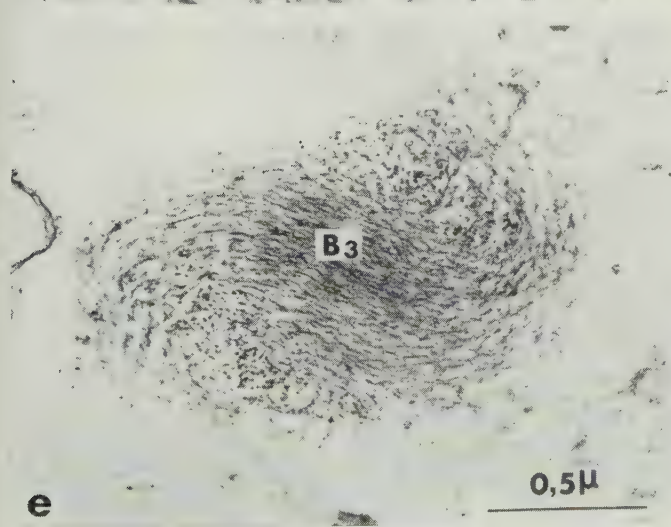
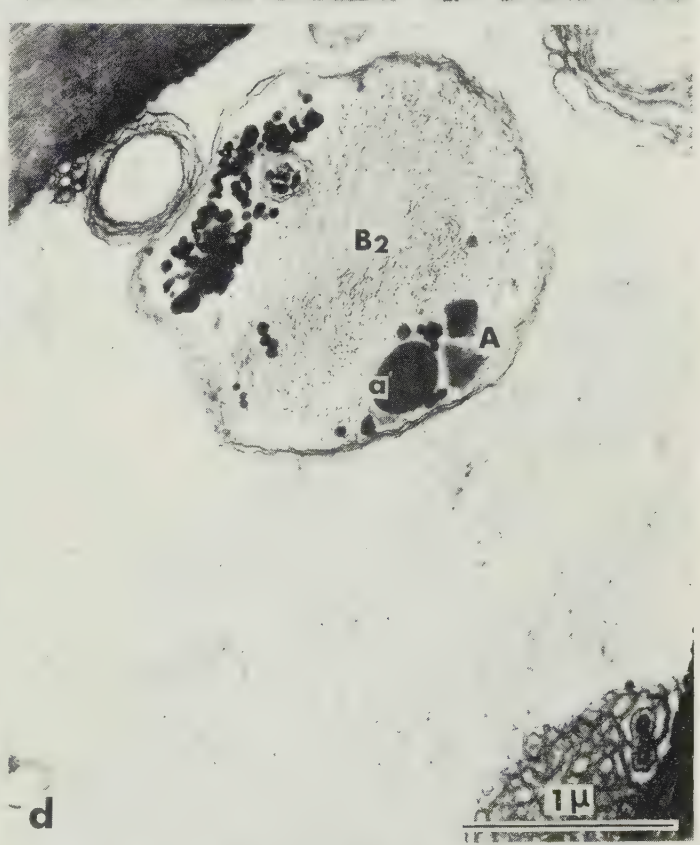
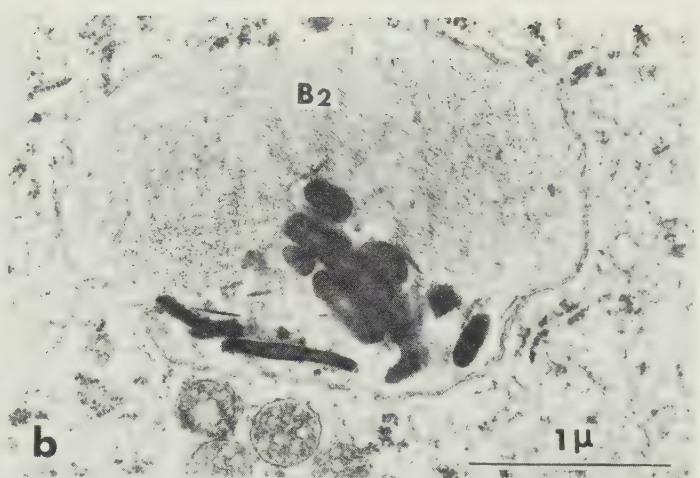
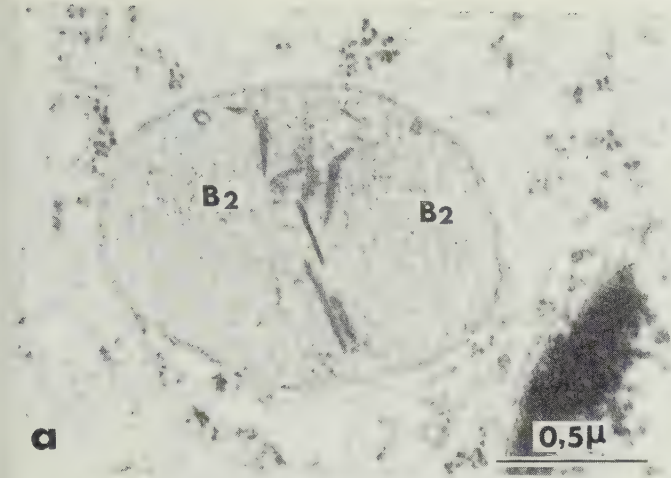


Les figures sont disposées dans le même ordre que celui adopté dans l'étude de *Pseudotsuga menziesii*. Si l'on adopte également la même terminologie, on peut dire que les protéoplastes de *Pinus sylvestris* contiennent une inclusion A en cristal solide polyédrique et une inclusion B fibreuse en cristal-liquide de type cholestérique.

Notons en particulier que la figure e ressemble étonnamment à une image de nucléoïde mitochondrial d'un Hémoflagellé (kinétoplaste de *Herpetomonas muscarum ingenoplastis* étudiée par Wallace et coll., 1973). L'explication en est que ces deux objets biologiques très différents par leur composition (l'un serait constitué de protéines fibreuses, l'autre est formé de DNA), auraient la même structure physique en cristal-liquide (ou pseudomorphose) cholestérique.

Mêmes conventions que pour *Pseudotsuga*.

(documents Strullu et Gourret, non publiés)



Cedrus libani G. Don
(Fig. a, b, c, d)

Avec les conventions précédentes, on peut dire que les protéoplastes de *Cedrus libani* possèdent une inclusion A en cristal solide de forme ovoïde, et une inclusion fibreuse B.

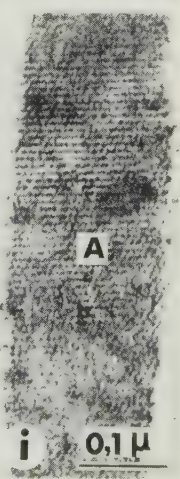
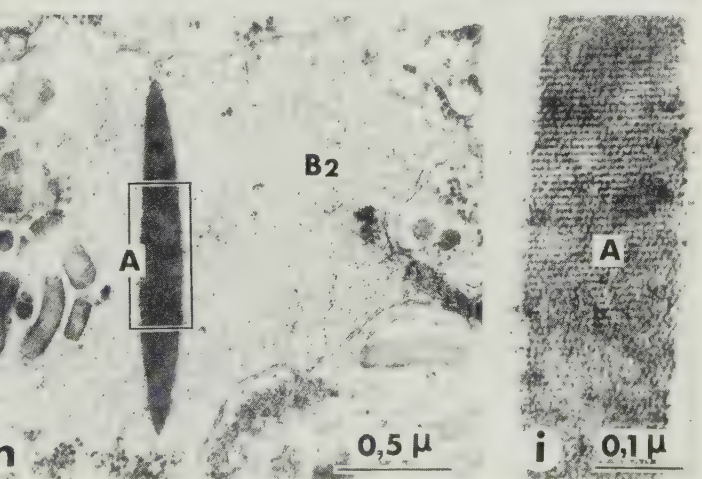
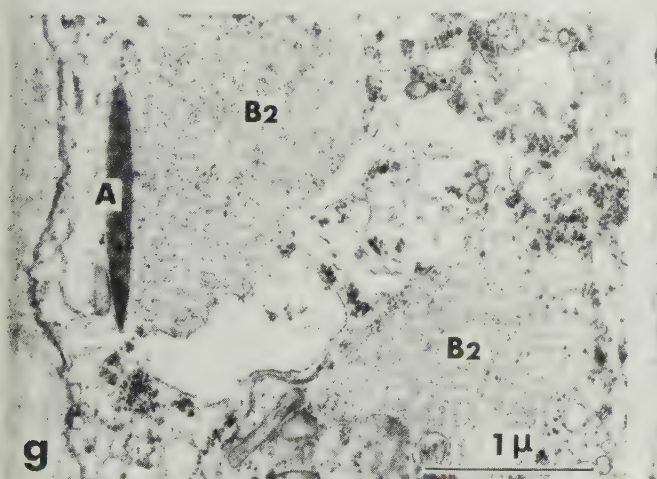
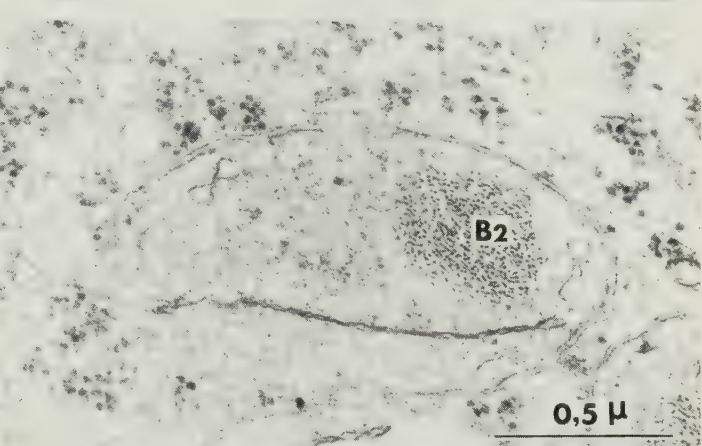
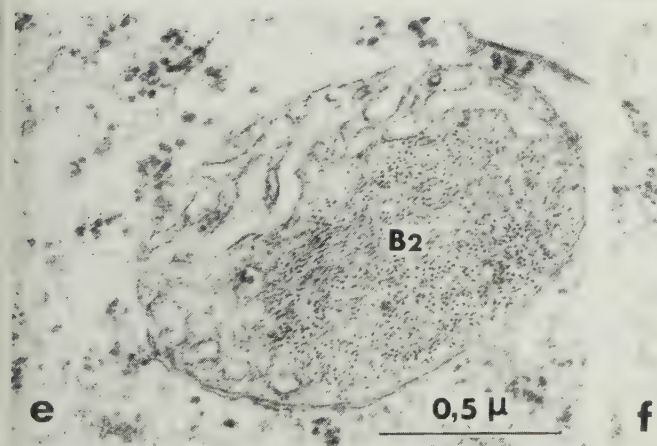
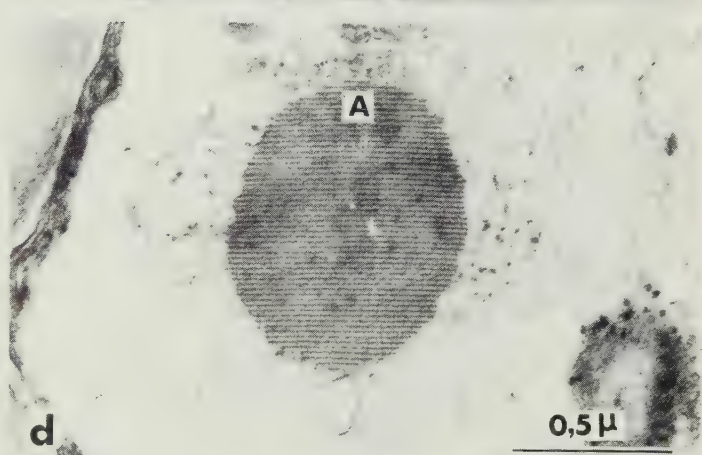
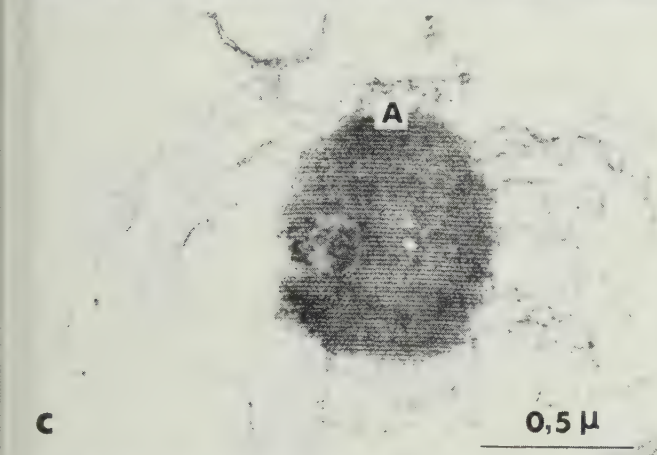
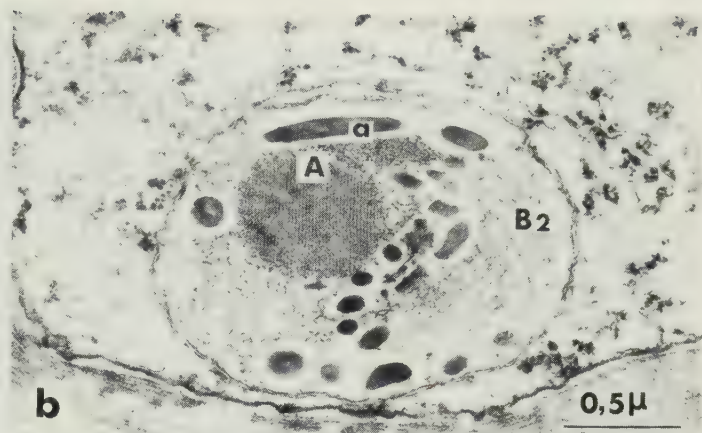
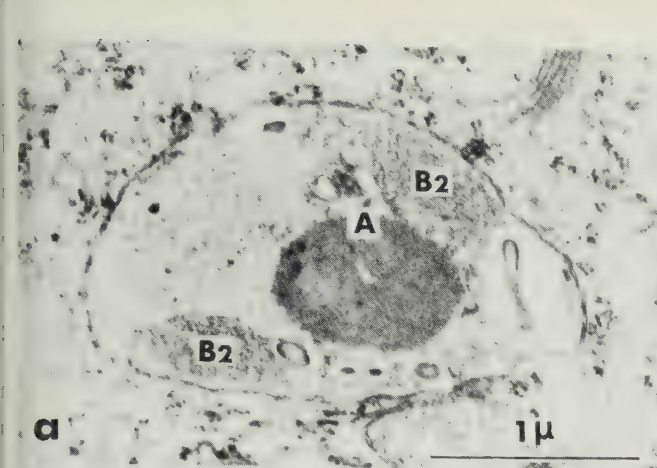
Mêmes conventions que pour *Pseudotsuga* Pl. 77 à 80).

Larix decidua Miller
(Fig. e, f, g, h, i)

Les protéoplastes du phloème de *Larix decidua* montrent une inclusion A, en cristal solide, de forme lenticulaire (tout comme *Pseudotsuga menziesii*), et une inclusion fibreuse B en cristal liquide, de type cholestérique. L'inclusion A qui est striée transversalement (Fig. i), comme celle de *Pseudotsuga menziesii*, n'a pu être observée que très rarement. Elle corrobore néanmoins l'idée d'une proximité phylétique des deux genres *Larix* et *Pseudotsuga* (De Ferré, 1950).

Mêmes conventions que pour *Pseudotsuga* (Pl. 77 à 80).

(documents Strullu et Gourret, non publiés).



Picea sitchensis Bong.

(Fig. a, b, c, d)

Dans les protéoplastes du phloème de *Picea sitchensis*, seule une inclusion fibreuse en cristal-liquide de type cholestérique, a pu être observée.

Mêmes conventions que pour *Pseudotsuga* (Pl. 77 à 80).

Abies concolor Gord et Glend

(Fig. e, f)

Dans les protéoplastes du phloème d'*Abies concolor*, il a été observé une inclusion fibreuse équivalant au type B2 du *Pseudotsuga*, et une toute petite inclusion A en cristal-solide (encart de la figure f).

Mêmes conventions que pour *Pseudotsuga* (Pl. 77 à 80).

Tsuga heterophylla Raf.

(Fig. g)

Dans les plastes du phloème de *Tsuga heterophylla*, que nous avons observés, le terme de protéoplaste est à la limite de son domaine d'application, puisqu'il n'existe qu'un amas fibreux parmi les nombreux grains d'amidon.

Mêmes conventions que pour *Pseudotsuga* (Pl. 77 à 80).

(documents Strullu et Gourret, non publiés).

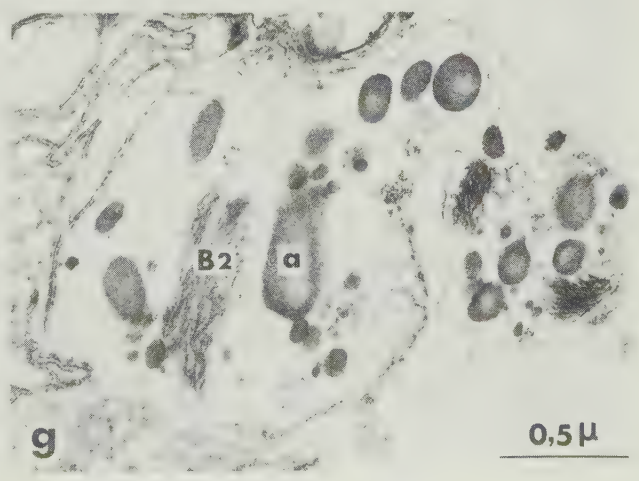
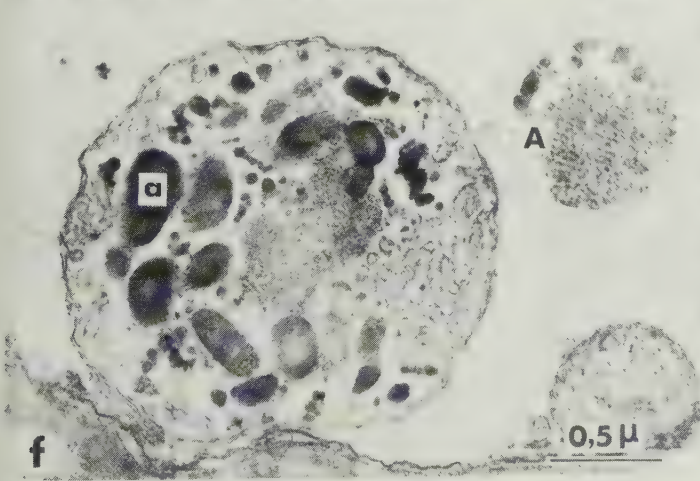
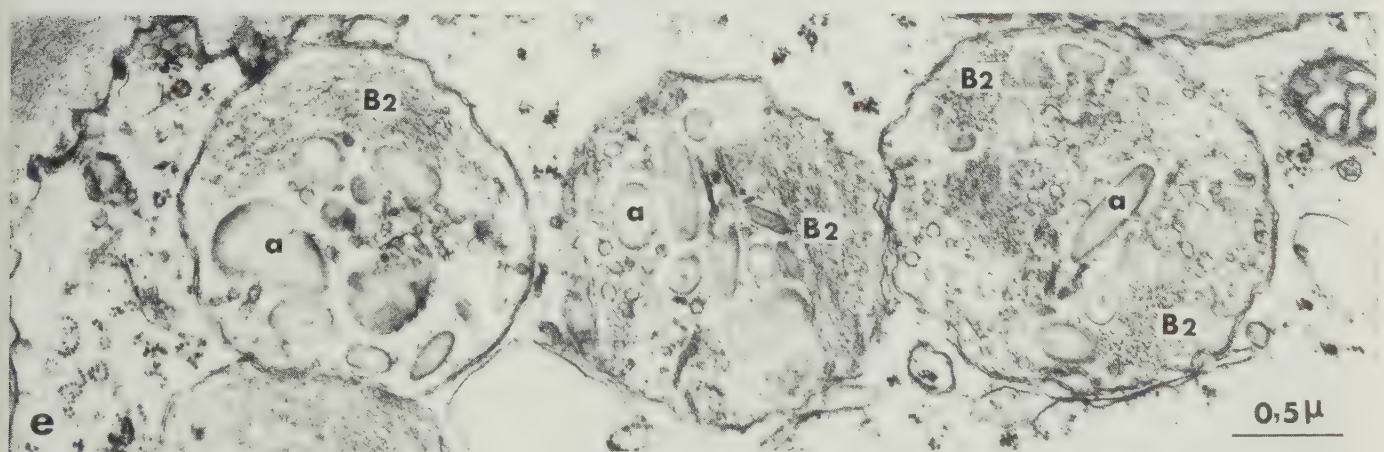
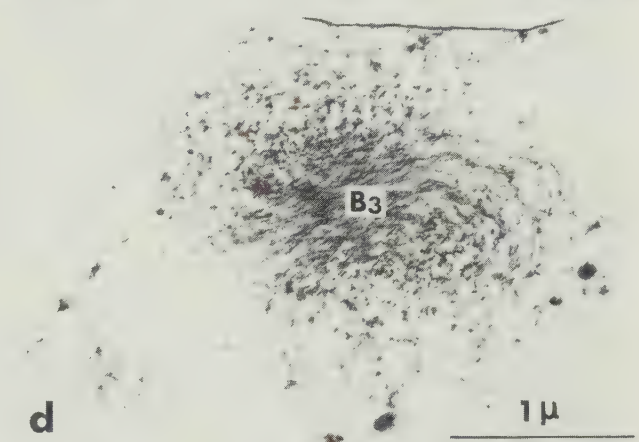
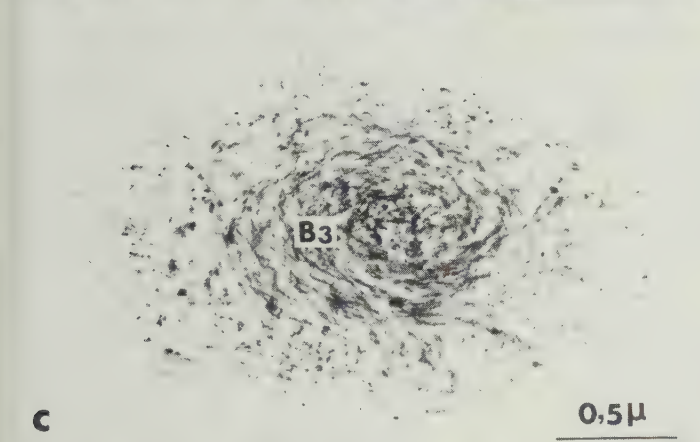
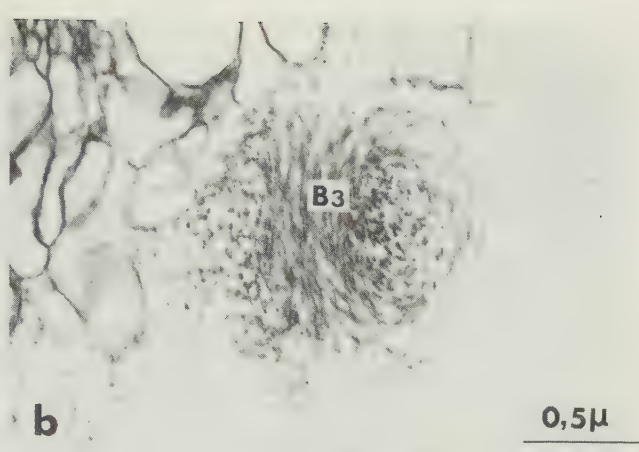
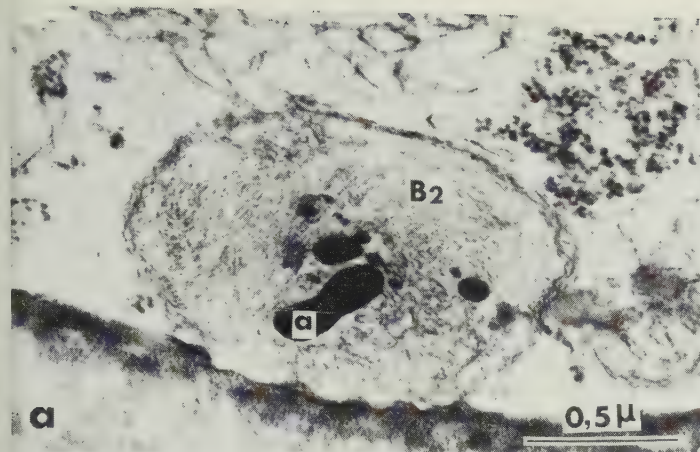


Fig. a - Dans les cellules végétales différenciées qui possèdent une grande vacuole centrale, la position relative des chloroplastes et du noyau est toujours la même : les chloroplastes sont situés contre le plasmalemme sauf si un peroxysome s'intercale entre eux; le noyau se trouve toujours contre le tonolemme (membrane de la vacuole), et son centre de gravité se trouve toujours plus près du tonolemme que du plasmalemme, même si -comme c'est le cas ici- la couche cytoplasmique est très mince. Cette disposition -pour l'instant inexpliquée- est sans doute inhérente à la structure physique des cellules végétales différenciées possédant une vacuole centrale importante.

N : noyau; P : plaste; V : vacuole; per : peroxysome.

Matériel : cellule de parenchyme cortical assimilateur d'une tige de *Nicotiana tabacum* L. A gauche se trouve une fibre de sclérenchyme reconnaissable par son épaississement secondaire (ep).

Fig. b - La règle présentée ci-dessus se trouve vérifiée dans cette figure montrant l'épiderme supérieur d'une feuille de haricot (*Phaseolus vulgaris* L.). Noter la différence de taille entre les plastes "reliques" de l'épiderme et les gros chloroplastes du mésophylle. mé : méat aérifère.

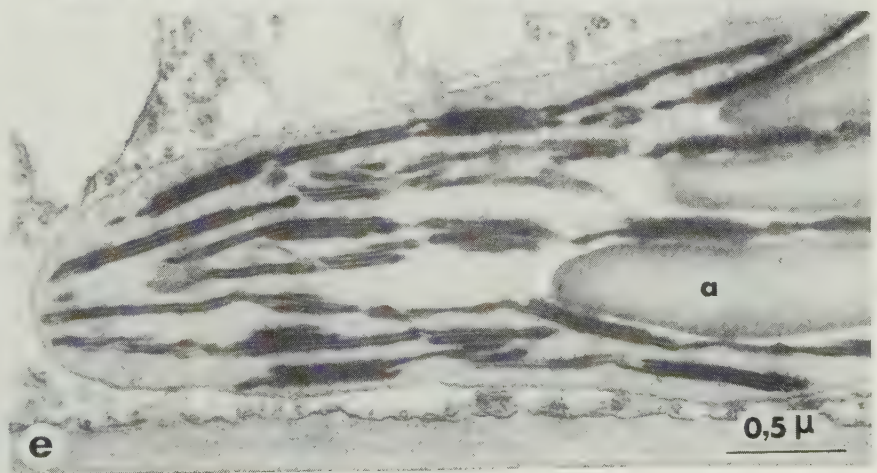
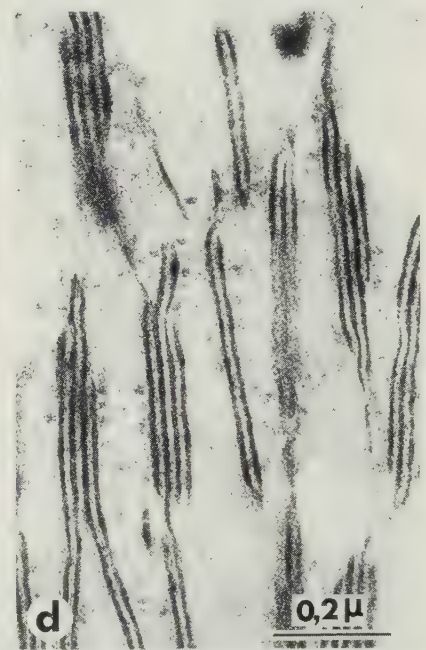
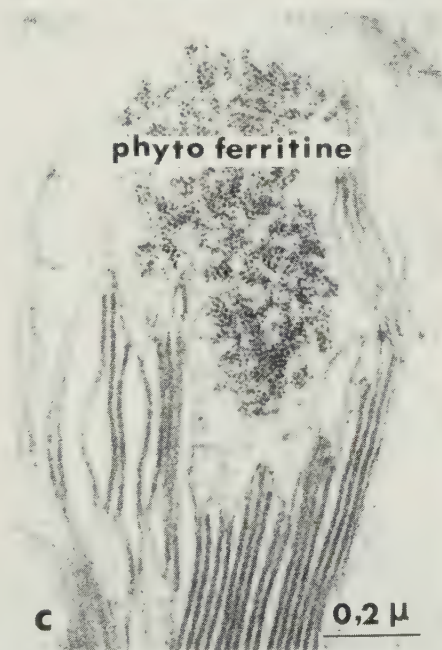
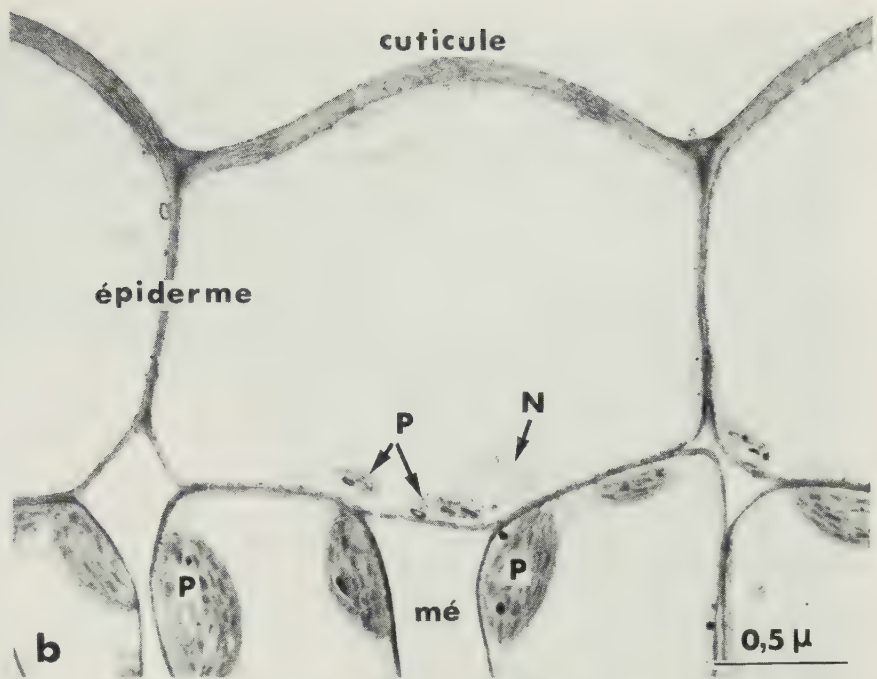
Fig. c - La phytoferritine ne se rencontre pas seulement dans les leucoplastes des racines (Planche 64). Elle peut aussi s'observer dans des chloroplastes comme c'est le cas ici. Plaste d'un rayon médullaire d'une tige de giroflée (*Cheiranthus cheiri* L.).

Fig. d - Dans ce chloroplaste d'arachide (*Arachis hypogea* L.) infectée par le virus du "mottle" (Flexiviridales), l'intérieur des thylakoïdes s'est chargé d'un produit très osmiophile.

Fig. e - Même observation (fortuite) dans un chloroplaste d'une tige d'*Equisetum limosum* L.

(originaux non publiés)

(Fig. d, Triharso et Gourret, *C. R. Acad. Sci.*, à paraître, 1975).



Dans les planches qui viennent (Planches 85 à 90), nous allons nous éloigner progressivement de la structure caractéristique des chloroplastes des Plantes (terrestres).

Chez les Characées, les chloroplastes ont encore la même structure que chez les Cormophytes : présence de granums (G), de lamelles intergranaires, d'amidon (a) et de globules osmiophiles (g). Il s'agit ici de chloroplastes observés dans les cellules d'une espèce (non déterminée) du genre *Chara* en provenance des marais littoraux de Tréguennec (Finistère).

P : plaste; m : mitochondrie.

(originaux non publiés)

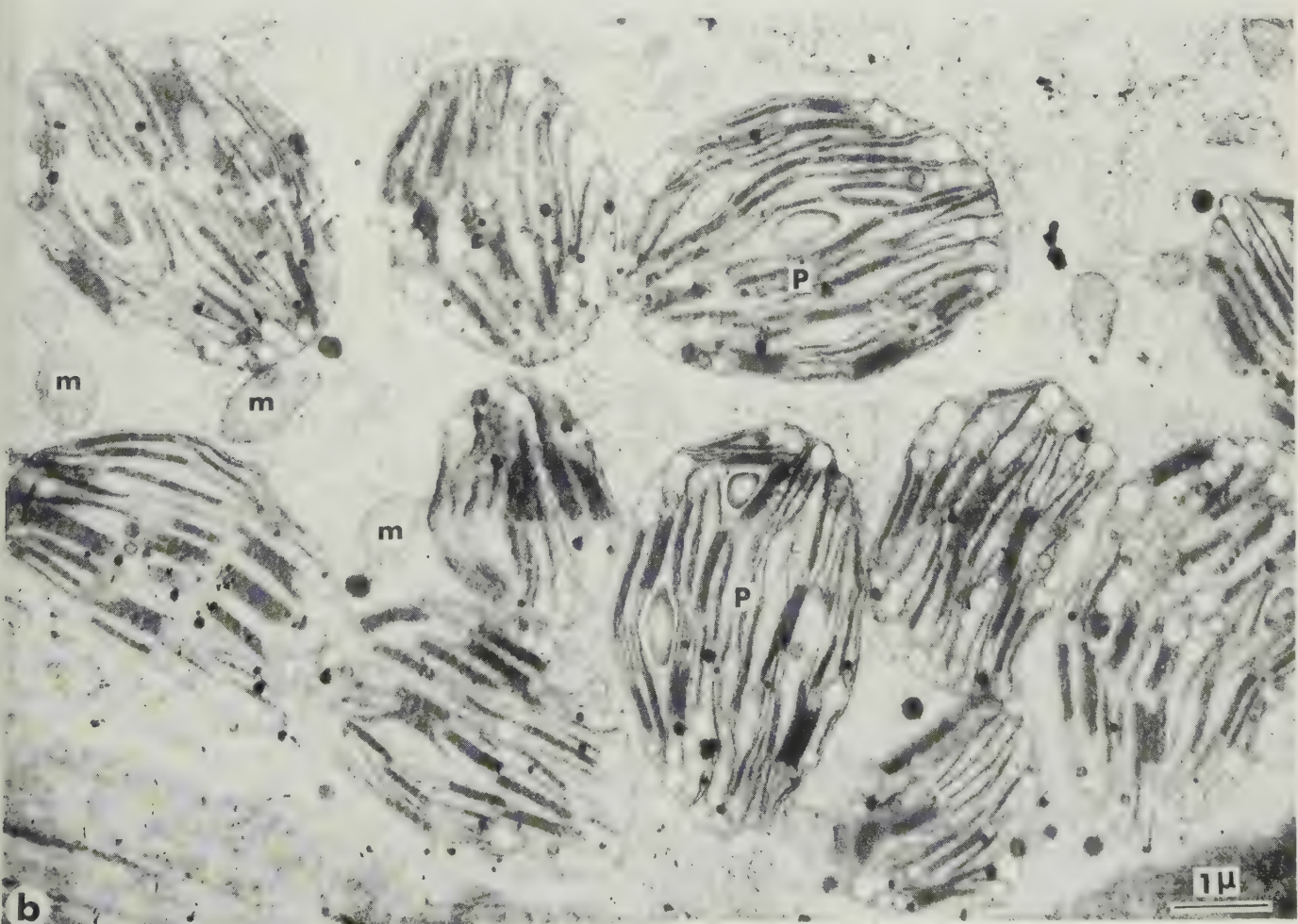
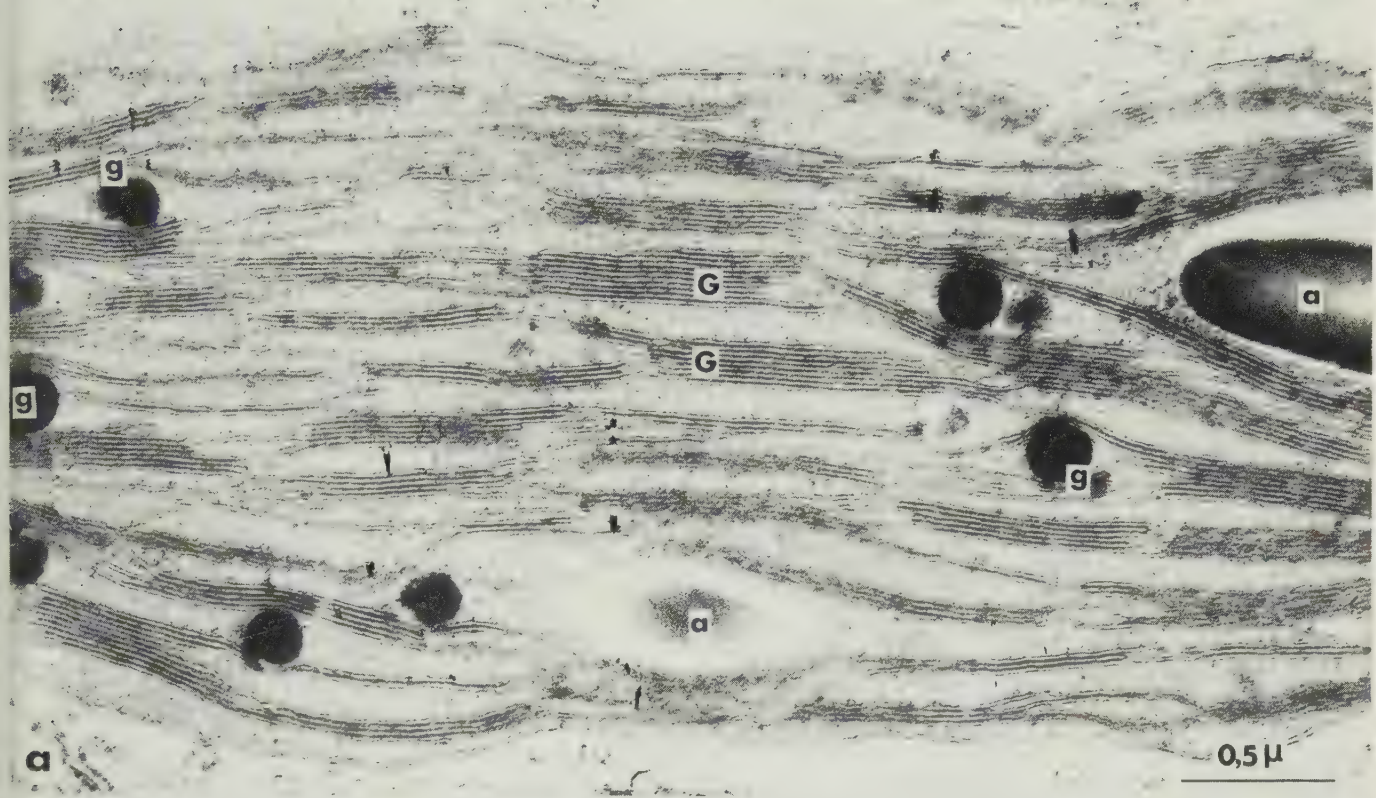


Fig. a, b - Plastés de *Codium tomentosum* Stackhouse. Dans ces chloroplastes, il n'existe pas de granums vrais, mais des pseudogranums (pG) dont le nombre de thylakoïdes est variable et généralement faible. Néanmoins, on reconnaît dans ces plastés, les éléments caractéristiques des chloroplastes de plantes : des plages de DNA condensé (et coagulé par les processus de fixation et d'inclusion), des ribosomes, des globules osmiophiles, des grains d'amidon et le système des lamelles chlorophylliennes déjà évoqué. a : amidon; g : globule osmiophile.

Fig. c - Dans ce plaste d'*Enteromorpha intestinalis* L., nous observons maintenant une structure fréquente chez les plastés d'Algues : le pyrénôïde(pyr). Il s'agit d'une zone de stroma plastidial dense aux électrons, cloisonné par des lamelles en continuité avec les lamelles chlorophylliennes du plaste, entouré de grains d'amidon plus ou moins volumineux(a). Notons qu'il n'y a ici qu'un plaste par cellule.pG : pseudogranum; rib: ribosome.

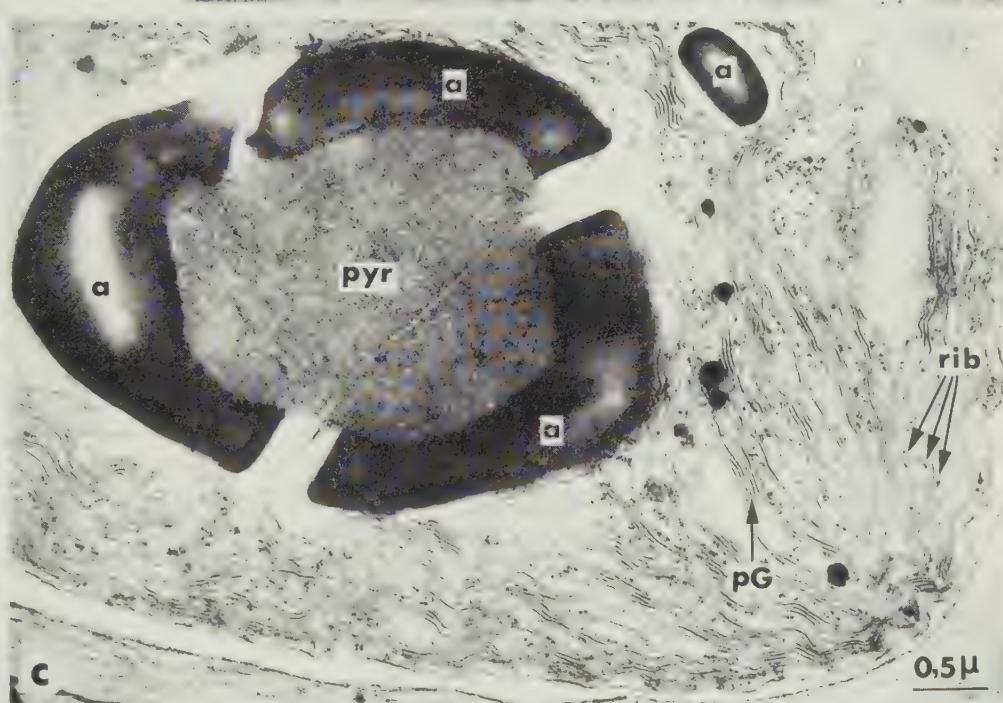
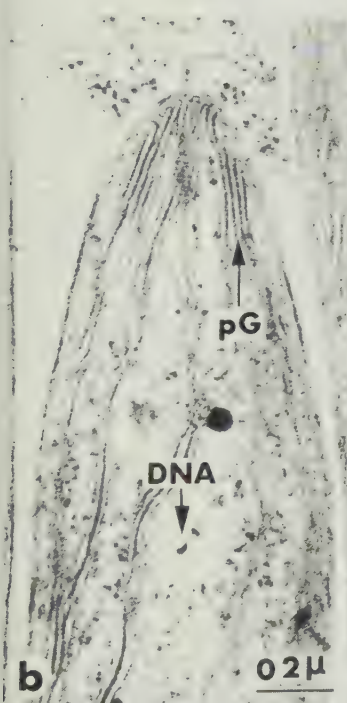
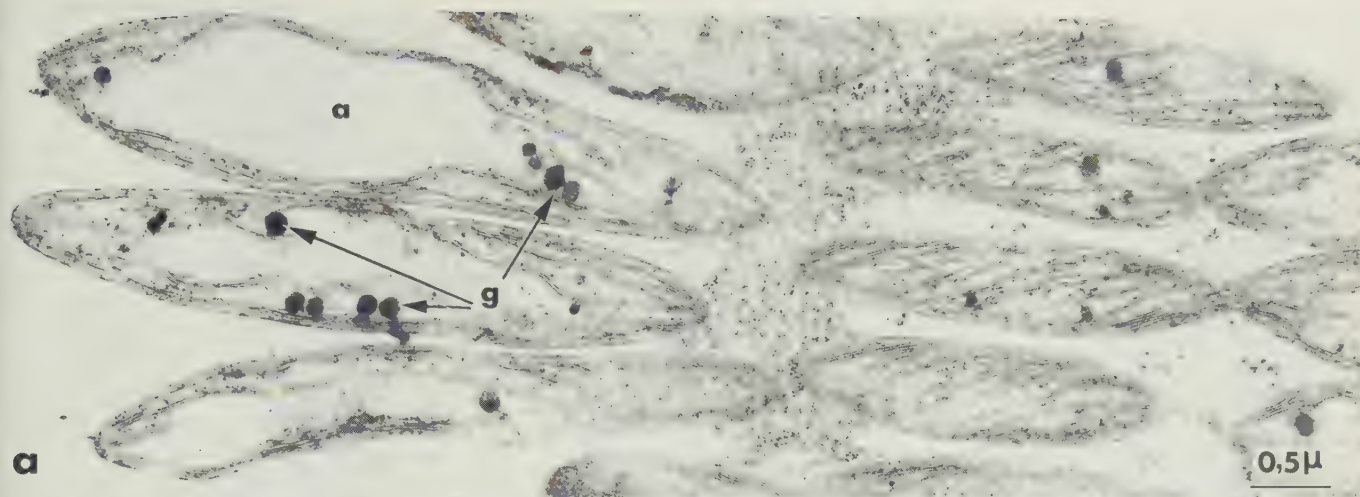
Fig. d - Dans ce plaste de *Bryopsis* sp. (vraisemblablement *B. hypnoides* Lamouroux), le pyrénôïde est bien visible.

Fig. e - Chloroplaste dans une cellule animale!

Ce chloroplaste vit en effet dans une cellule d'un diverticule intestinal d'un Mollusque Opisthobranch se nourrissant du contenu cellulaire du *Bryopsis* qui est observé ci-contre. Les plastés de cette algue passent dans le tube digestif du mollusque et au lieu d'être digérés, certains d'entre eux entrent en symbiose à l'intérieur des appendices dorsaux du mollusque. Les plastés analogues à celui-ci continuent à photosynthétiser dans ce nouveau cytoplasme et ils semblent qu'ils fournissent des composés glucidiques directement au mollusque (Muscatine et Greene, 1973).

Les échantillons qui ont servi à la réalisation des clichés d et e nous ont été fournis par le Professeur F. Magne.

(Originaux non publiés)

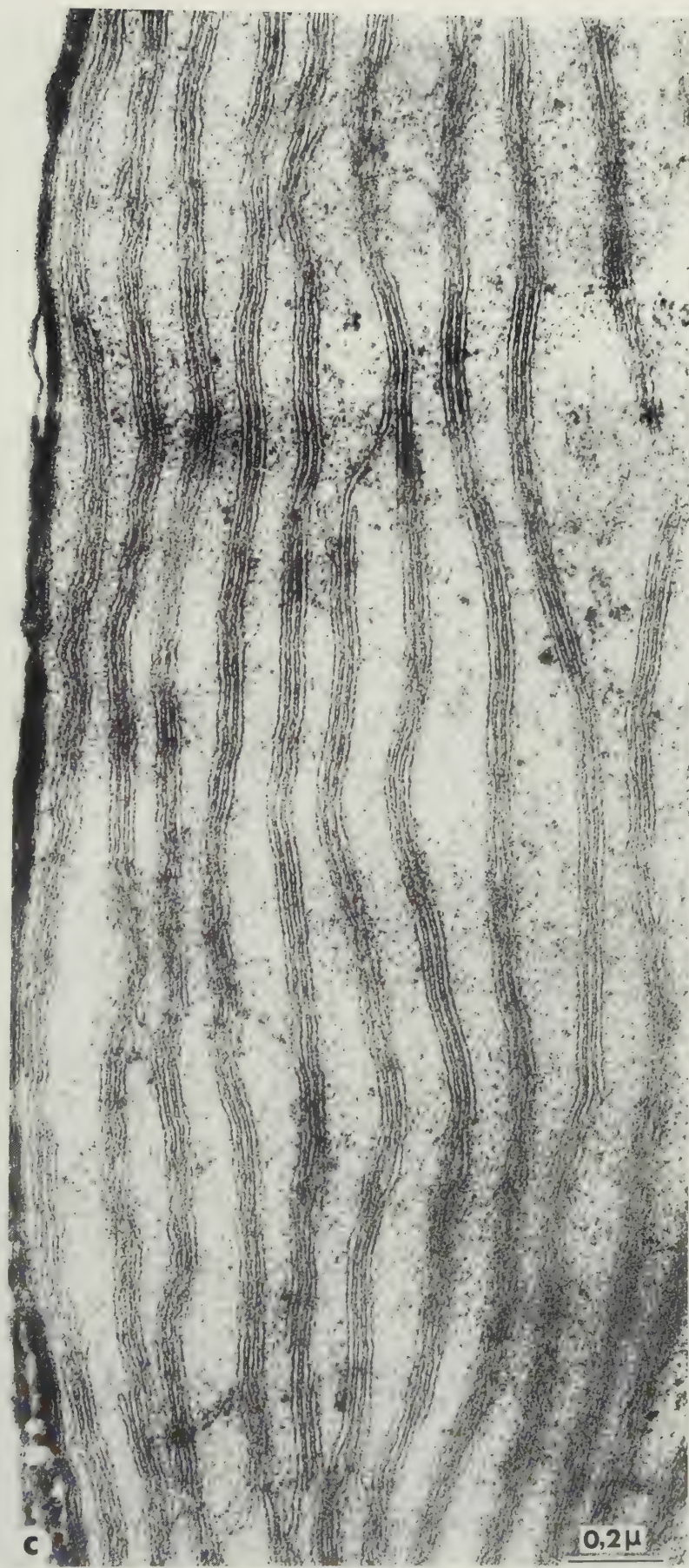
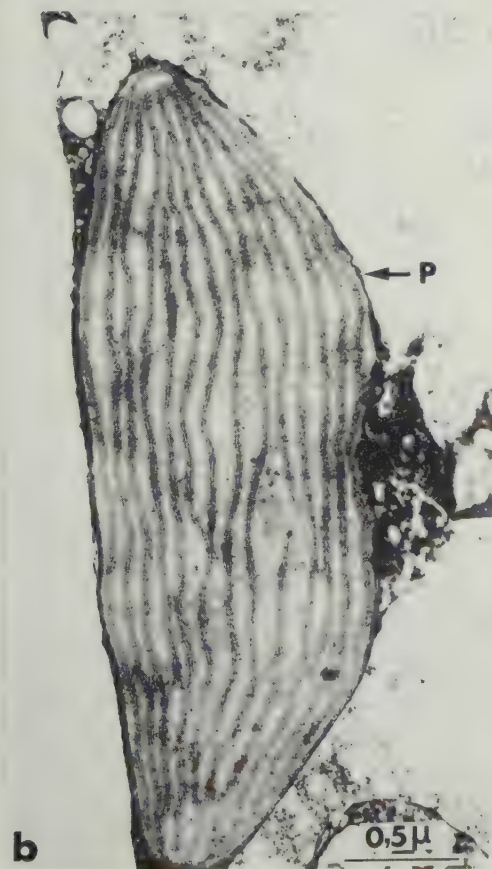
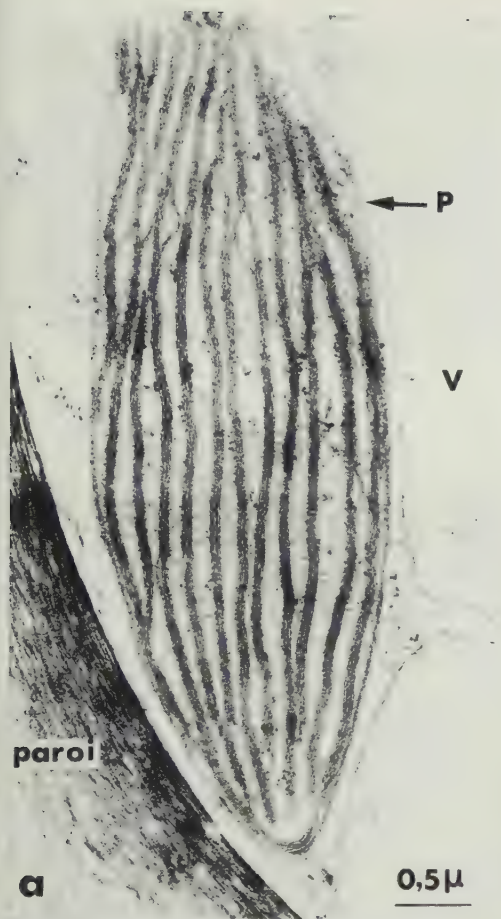


Dans ces plastes de *Fucus vesiculosus* L., il n'y a pas de granums, ni même de pseudogranums comme dans les *Chlorophyceae* examinées précédemment. Les thylakoïdes sont groupés par trois.

Cette disposition se rencontre chez toutes les Algues Brunes *Phaeophyceae* et chez bon nombre d'autres Algues (Dodge, 1973).

P : plaste; V : vacuole.

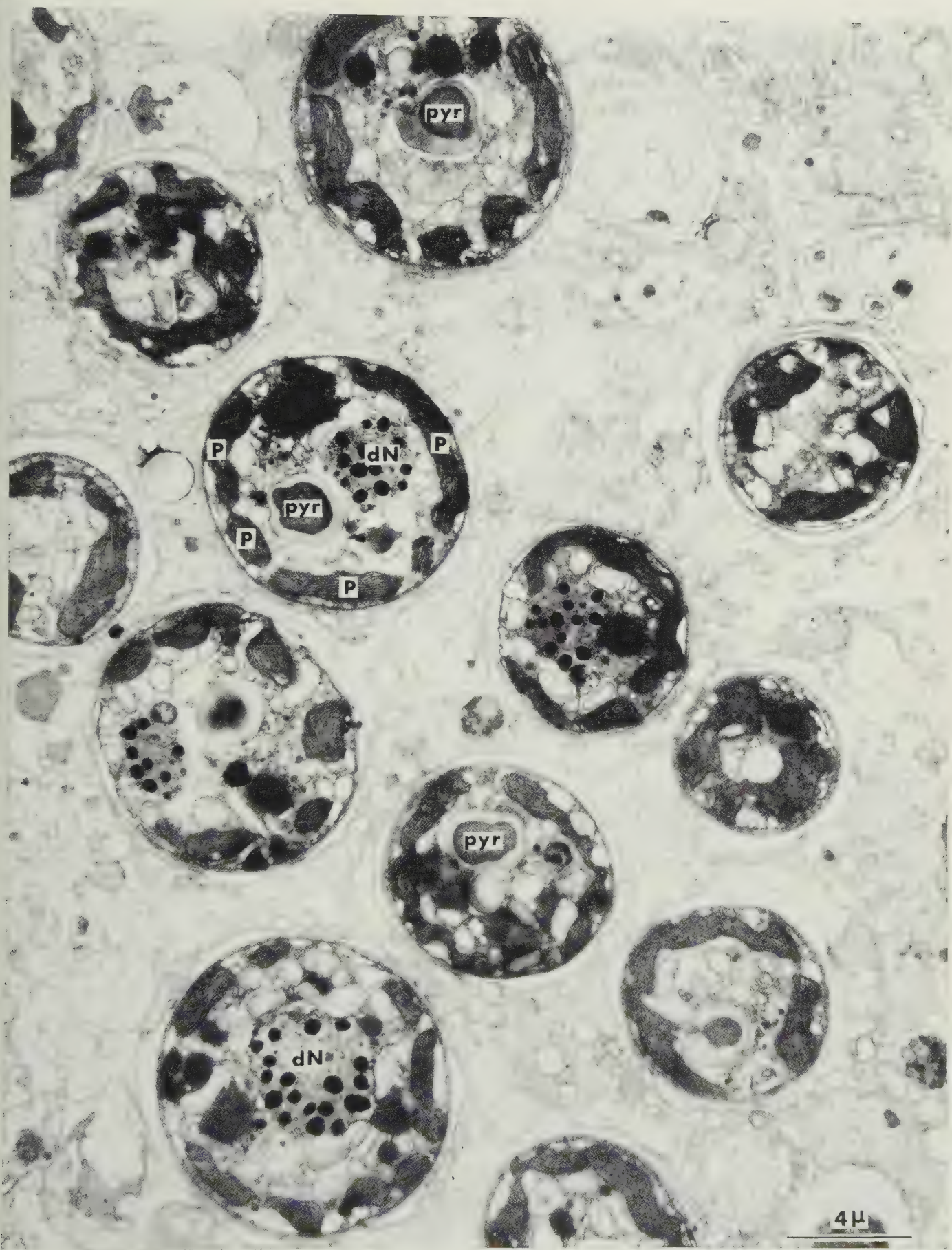
(originaux non publiés)



Les cellules arrondies que l'on voit ici, sont des Xanthelles symbiotiques dans l'endoderme d'*Anemonia sulcata*. Les noyaux à chromosomes permanents (dinocaryons) caractéristiques des Péridiniens, sont reconnaissables. Le plaste de chaque cellule forme de multiples lobes à la périphérie de chacune de ces cellules.

dN : dinocaryon; P : plaste; pyr : pyrénoloïde.

(originaux non publiés)



4 μ

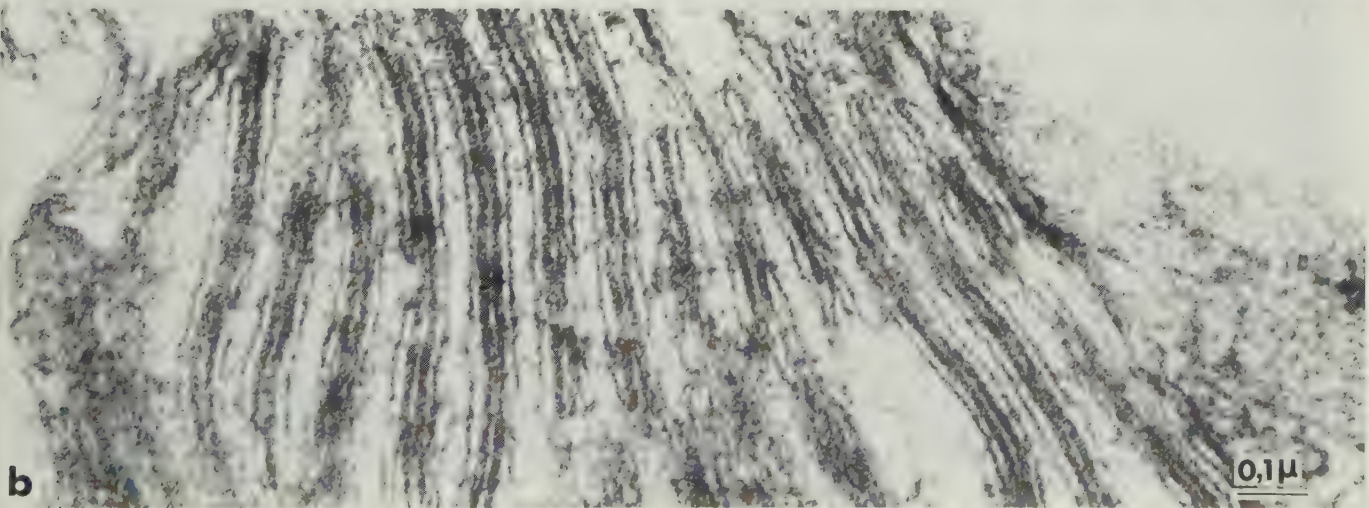
Le plaste multilobé est bien visible dans la figure a. Il occupe une position périphérique dans la cellule et émet vers l'intérieur de celle-ci, une protrusion qui est le pyrénôïde. Cette protrusion est formée par du stroma plastidial dense aux électrons. Elle est limitée par les 2 membranes de l'enveloppe plastidiale. Un grain d'amidon extra-plastidial (et donc en position hyaloplasmique) entoure la protrusion. D'autres grains d'amidon extraplastidiaux sont dispersés dans le cytoplasme.

Les thylakoïdes des plastes sont groupés par trois (Fig. b).

Même matériel que dans la planche précédente : tentacule d'*Anemonia sulcata* contenant des Péridiniens symbiotiques; en provenance du littoral de la Guimorais (Ille et Vilaine).

dN : dinocaryon; m : mitochondrie; a : amidon; pyr : pyrénôïde.

(originaux non publiés)



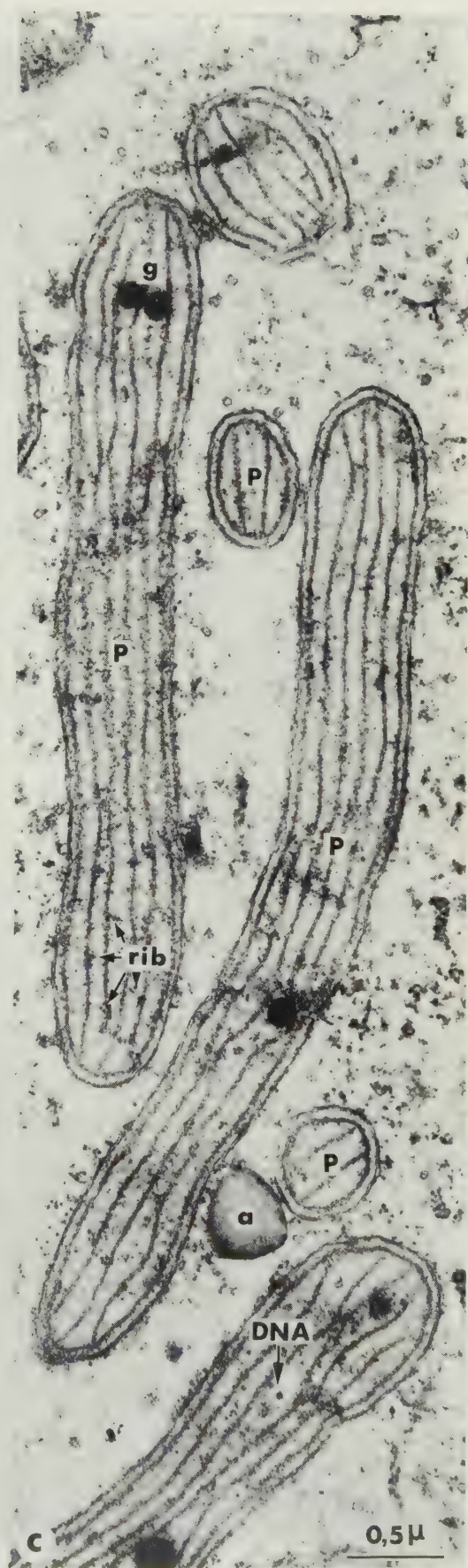
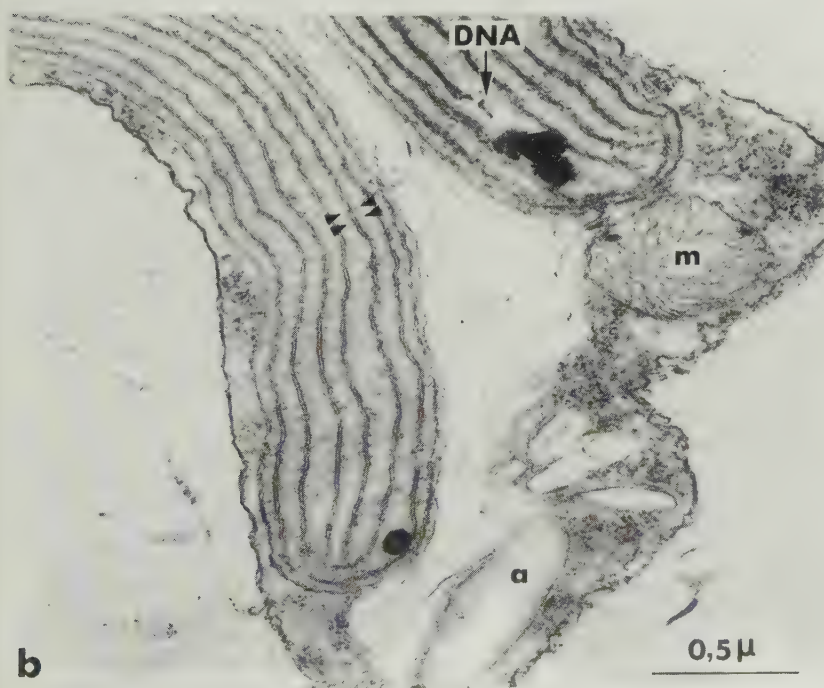
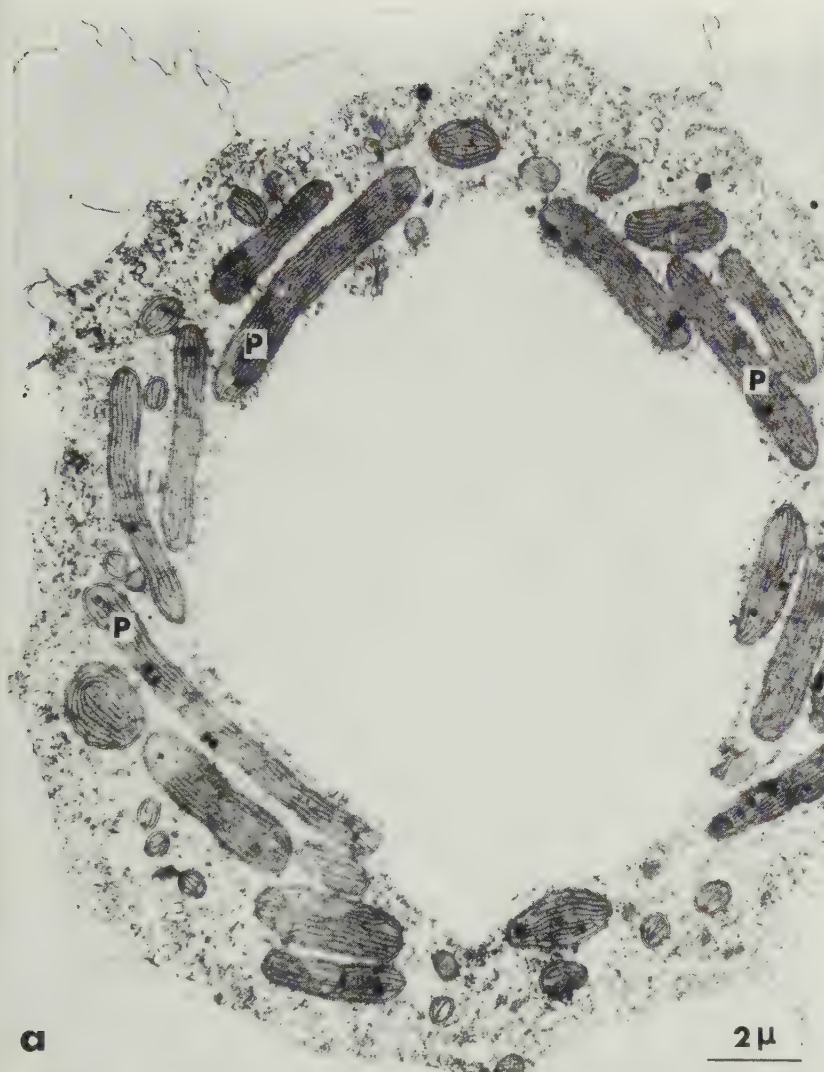
Dans les plastes de *Polysiphonia elongata* Hudson, que l'on voit ici, il n'y a ni granums, ni pseudogranums, ni groupes de thylakoïdes : les thylakoïdes sont isolés et l'amidon est extraplastidial.

Sur la face interne de la membrane des thylakoïdes, on devine de place en place des granulations légèrement plus denses que le stroma(►◄). Il s'agit des phycobilisomes qui sont ici peu contrastés. Ces phycobilisomes contiennent les biliprotéines comme la phycoérythrine qui est ici prédominante dans ces plastes rouges. La chlorophylle se trouve, elle, dans la membrane des thylakoïdes. Des zones de DNA condensé (et coagulé par les processus de fixation et d'inclusion), des ribosomes (rib) et des globules osmiophiles (g) sont également visibles dans le stroma plastidial. a: amidon floridéen extraplastidial; m: mitochondrie.

Hormis les différences de leurs formes, tous les plastes de *Rhodophyceae* ressemblent à ceux que nous venons de décrire : les thylakoïdes isolés portent des phycobilisomes, et l'amidon floridéen est extraplastidial.

Matériel en provenance du littoral de la Guimorais (Ille et Vilaine).

(originaux non publiés) .



Nostoc du lichen

Peltigera canina L.

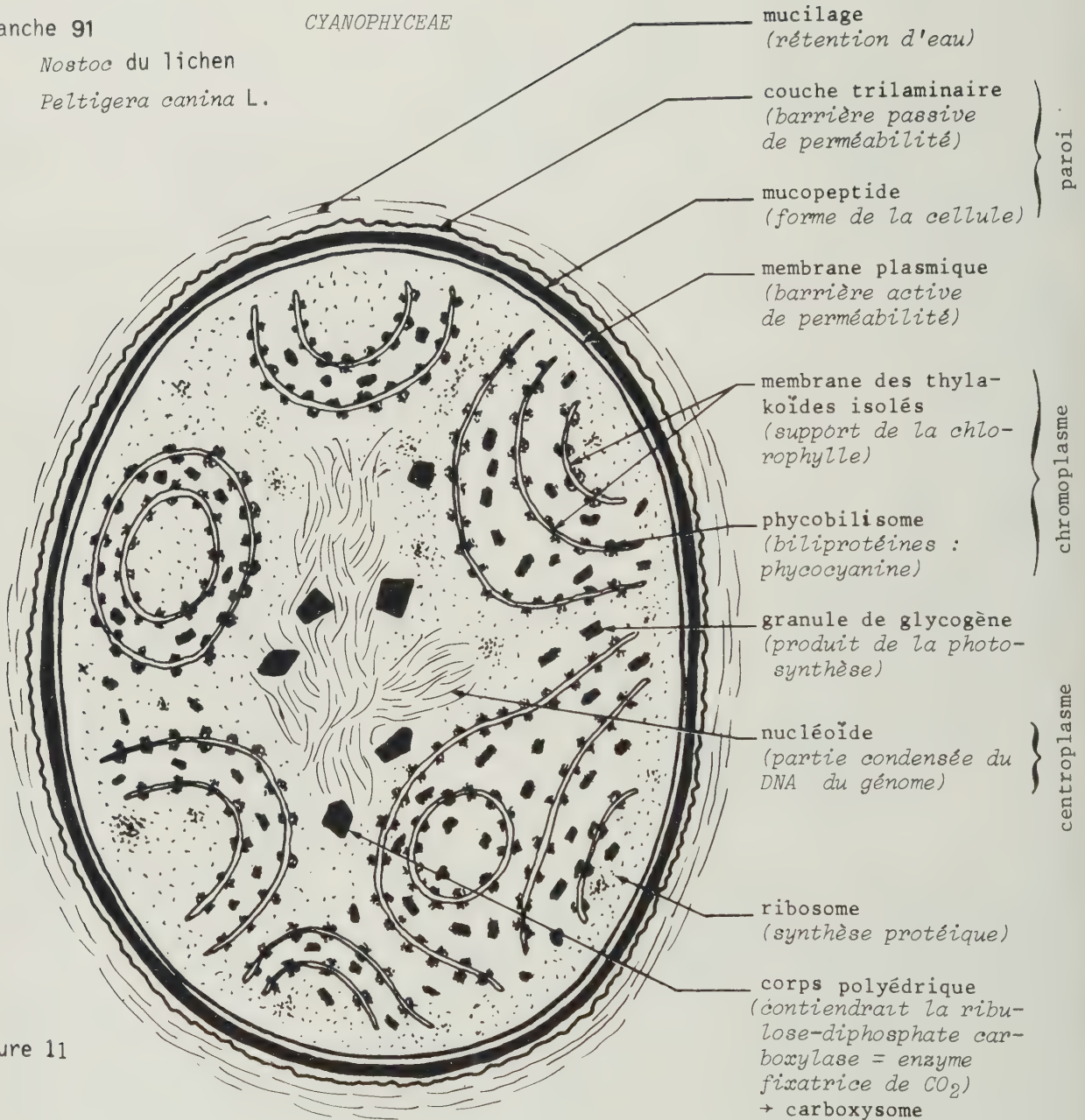
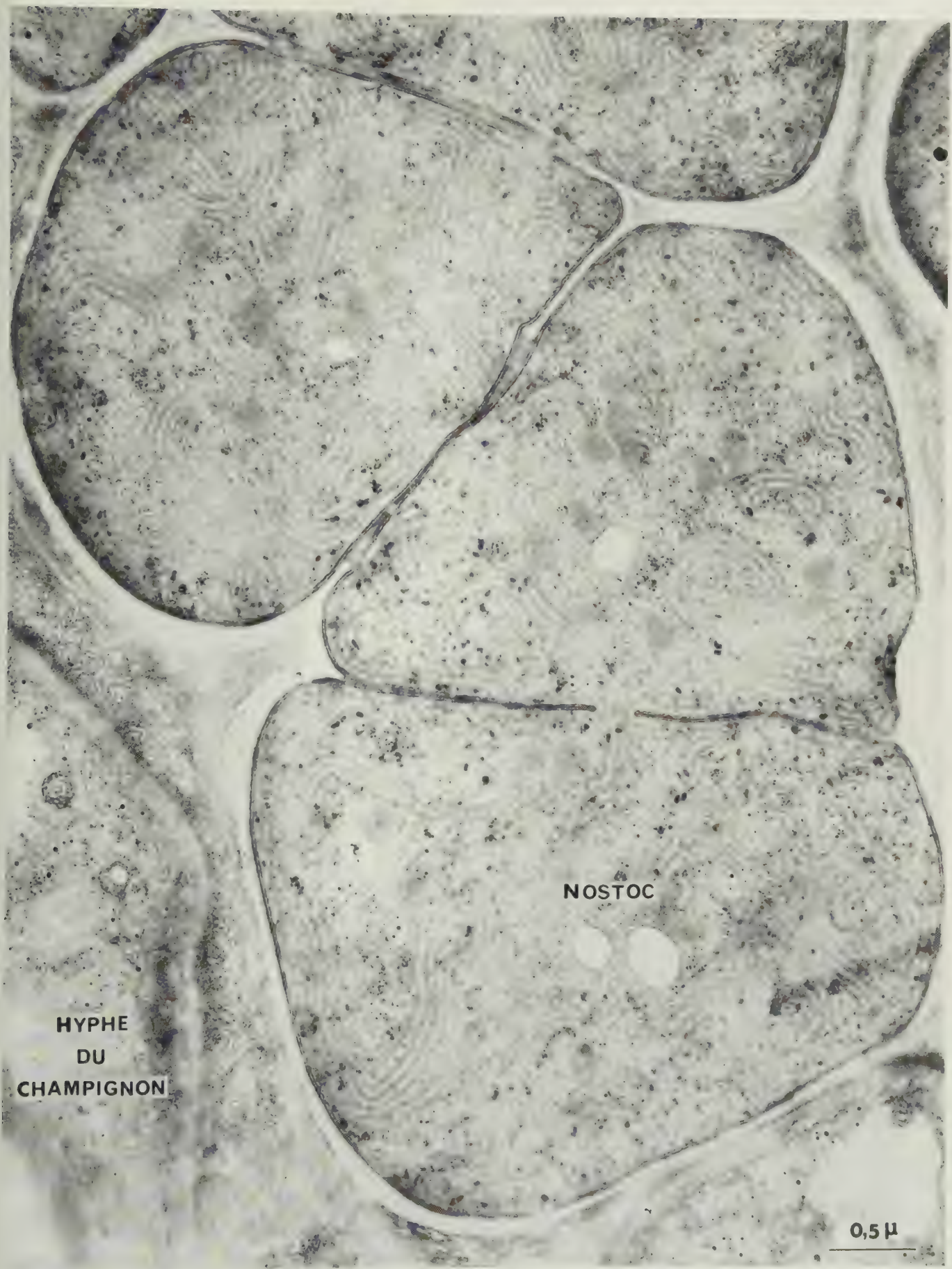


Figure 11

Chez les *Cyanophyceae* comme *Nostoc* dont on a schématisé ci-dessus une cellule, les lamelles chlorophylliennes sont isolées et portent des phycobilisomes... comme chez les plastes des *Rhodophyceae*! Il y a là une ressemblance étonnante entre un organe cellulaire (le plaste) et une cellule procaryote (la *Cyanophyceae*). Et puisque c'est la dernière photographie du présent travail, comparons cette cellule avec les *Mycoplasmes* dont nous sommes partis (Planche 5). Quelle différence de complexité! Pourtant la disposition relative du nucléoïde, des ribosomes et de la membrane plasmique est la même dans le *Mycoplasme* et dans la *Cyanophyceae*!



HYPHE
DU
CHAMPIGNON

NOSTOC

0,5 μ

PLASTES

(résumé des principales conclusions)

*RAPPEL de l'importance écologique des plastes
(d'après les données de la littérature)*

Les plastes sont les organites semi-autonomes caractéristiques des cellules des Plantes (terrestres) et des Algues. Sous leur forme différenciée contenant des lamelles chlorophylliennes ils réalisent la majeure partie de la photosynthèse dans la biosphère actuelle : captation d'énergie provenant du soleil, fixation du gaz carbonique dont le carbone et l'oxygène s'ajoutent par des processus enzymatiques à l'hydrogène de l'eau pour former des composés réduits de nature glucidique, formation de l'oxygène atmosphérique par photolyse de l'eau.

Par la valeur alimentaire qu'ils ont sous leur diverses formes (surtout celle des chloroplastes et des amyloplastés), les plastes constituent une part très importante de la nutrition des Animaux se nourrissant de Plantes ou d'Algues.

Les chromoplastes en donnant la couleur de certains fruits et de certaines fleurs, les plastés des cellules glandulaires en contribuant à la formation des secrétions des Plantes jouent également un rôle écologique vis à vis de certains Animaux en les attirant ou en les repoussant.

Enfin, par toutes les fonctions énumérées ci-dessus et quelques autres qu'ils remplissent dans certaines cellules des Plantes, les plastes contribuent directement au développement des espèces végétales qui les abritent.

Ainsi, par la captation d'énergie solaire, par leur intervention dans la composition de l'atmosphère terrestre (prélèvement de CO_2 , dégagement de O_2), par leurs capacités biosynthétiques expliquant leur biomasse considérable et leur valeur nutritive, par la fourniture de glucides aux espèces végétales qui les abritent et aux symbiotes racinaires des Plantes (Champignons des mycorrhizes, Bactéries des nodules fixateurs d'azote, Bactéries de la rhizosphère), par leurs fonctions mineures, les plastes jouent un rôle central dans la structure spatiale et le fonctionnement de la biosphère actuelle. Ils permettent aussi de comprendre certains points importants de son évolution antérieure et vraisemblablement son avenir.

Tous les plastes non sénescents sont limités par deux membranes. Leur substance interne ou stroma, souvent plus dense que le hyaloplasme entourant le plaste, montre occasionnellement des plages de DNA condensé (et coagulé par les procédés de fixation et d'inclusion) ainsi que des ribosomes surtout abondants dans les plastes en croissance. Les autres éléments que la microscopie électronique permet d'observer dans les plastes sont les membranes, les globules sphériques ou ovoïdes chargés de caroténoïdes, les grains d'amidon et les inclusions protéiques.

La diversité structurale des plastes a été reliée aux **faits suivants** :

1° - Phénomènes diachroniques (ou temporels) de la différenciation des plastes. La plupart des plastes se multiplient sous une forme jeune, indifférenciée ou peu différenciée et de petite taille (proplastes). Ils se différencient ensuite en plastes adultes suivant plusieurs voies dont la plus importante est celle qui amène la formation du système lamellaire portant les pigments photosensibles. Plus tard ils meurent à la suite d'une phase de sénescence plus ou moins marquée en même temps que la destruction des cellules qui les abritent. Cette mort compense la multiplication et la croissance des plastes.

2° - Diversité des plastes liée à la taxonomie. Les *Abietaceae* (et seulement les *Abietaceae* parmi les Gymnospermes) possèdent des protéoplastes de phloème dans la lignée des cellules qui se différencient en éléments criblés (et seulement dans ces cellules). Les cristaux protéiques sont différents dans des phylums différents (*Pinus/Cedrus/Larix-Pseudotsuga*) mais ils se ressemblent dans ces deux derniers genres qui appartiennent au même phylum.

La diversité structurale des plastes à lamelles chlorophylliennes a été vérifiée par des exemples appartenant aux groupes suivants :

plastres à thylakoïdes iso- lés et porteurs de phycobilisomes	plastres à thylakoïdes groupés par 3	plastres à thylakoïdes for- mant des pseudo- granums	plastres à thylakoïdes for- mant des granums vrais
<i>Rhodophyceae</i>	<i>Péridiniens</i> <i>Phaeophyceae</i>	<i>Chlorophyceae</i>	<i>Charophyceae</i> et Plantes (terrestres) (ou Cormophytes)

Cette diversité structurale liée à la taxonomie est surtout évidente chez les Algues. Outre la disposition des lamelles, elle concerne aussi la position des grains d'amidon (où leur absence comme chez les *Phaeophyceae*), la forme, la taille et le nombre des plastes ainsi que la structure du pyrénoloïde lorsqu'il existe.

3° - Différenciation synchronique (ou spatiale) des plastes en relation avec la différenciation histo-cytologique des Plantes (et à un moindre degré des Algues)
Cette corrélation a été constatée à propos des plastes régressés des épidermes, des chloroamyloplastés des cellules stomatiques, des chloroplastes de parenchyme assimilateur, des amyloplastés d'organes à réserves, des chromoplastes d'organes pigmentés, des protéoplastes du phloème, des plastes de cellules glandulaires associés à du reticulum endoplasmique.

4° - Influence du milieu où vivent les plastes. Parmi les paramètres de ce milieu, le plus important est la lumière qui conditionne la formation des chloroplastes (apparition de corps prolamellaires si la plante est à l'obscurité).

AUTRES RELATIONS MISES EN EVIDENCE DANS LES PLANTES ET DANS LES ALGUES

Les Mycoplasmes phytopathogènes modifient le développement des plastes des pétales et des feuilles. Au lieu de subir une sénescence corrélative de la pigmentation normale, les plastes du tissu interne des pétales se différencient en chloroplastes expliquant ainsi la virescence et la phyllodie de ces "pétales". Par contre les chloroplastes des feuilles régressent et perdent progressivement leur système de lamelles chlorophylliennes, tout en formant des globules de caroténoïdes, puis ils se détruisent complètement.

Les protéoplastes du phloème des *Abietaceae* montrent une différenciation intéressante au point de vue biophysique. Ces protéoplastes contiennent une inclusion fibreuse qui, dans les cas favorables, montre des textures caractéristiques de cristaux-liquides (ou de pseudomorphoses) de type cholestérique. Chez *Pseudotsuga menziesii* certains protéoplastes contiennent une baguette en cristal solide de section hexagonale correspondant à l'inclusion fibreuse. Une transition de phase (solide-cholestérique) est vraisemblable entre ces deux aspects de l'inclusion.

Dans les cellules différenciées possédant une grande vacuole centrale les chloroplastes des Plantes et les plastes des Algues occupent une position périphérique (sans doute liée à leur rôle assimilateur de CO_2 et vraisemblablement sous-tendue par des phénomènes physiques de densité relative des plastes par rapport au cytoplasme où ils se trouvent).

La semi-autonomie des plastes telle qu'elle est conçue dans la théorie symbiotique, a été illustrée par la ressemblance des plastes de *Rhodophyceae* avec les *Cyanophyceae* et par l'aptitude qu'ont certains plastes à former une symbiose en dehors de leur végétal d'origine. L'exemple décrit est celui d'un Mollusque Opisthobranchie contenant des chloroplastes de *Bryopsis*.



DISCUSSION

La question centrale traitée dans cette discussion sera celle-ci :

"A QUELS FAITS BIOLOGIQUES DOIT-ON ATTRIBUER LA DIVERSITE DES PLASTES ?"

Nous aborderons successivement les points suivants :

- I - REMARQUES PRELIMINAIRES D'ORDRE SEMANTIQUE p. 241
 - "Pro", "leuco",... 241
 - "Tonoplaste", "phragmoplaste",... 241
- II - PLASTES DES PETALES 242
 - Etapes chronologiques du développement 242
 - Diversité taxonomique 242
 - Différenciation histo-cytologique des pétales 242
- III - PROTEOPLASTES DU PHLOEME DES ABIETACEAE 243
 - 1°) Problèmes d'ordre biophysique 243
 - 2°) Intérêt systématique des protéoplastes.... 244
 - 3°) Autres problèmes 245
- IV - REFLEXIONS SUR LA DIVERSITE DES PLASTES EN GENERAL 245
 - 1°) "L'âge" des plastes et les étapes de leur développement.... 246
 - 2°) La taxonomie (génome plastidial et génome nucléaire) 246
 - 3°) La différenciation cellulaire (génome nucléaire et génome plastidial).... 248
 - 4°) L'influence des facteurs physico-chimiques du milieu où se trouvent les plastes 248

I - REMARQUES PRELIMINAIRES D'ORDRE SEMANTIQUE

"Pro" : en avant, en début, qui précède; "leuco" : blanc, incolore; "chloro" : vert; "amylo" : à amidon; "chromo" : pigmenté; "protéo" : protéique. Il existe parfois une certaine distorsion entre l'étymologie de ces préfixes et l'usage des termes "proplaste", "leucoplaste", "chloroplaste", "chromoplaste", "amyloplaste", "protéoplaste" qu'ils ont permis de construire. Si l'on s'en tient à l'étymologie stricte, on peut dire que les chloroplastes sont des chromoplastes et en constituent un sous-ensemble (plastés verts). Cependant, l'usage distingue clairement les deux termes en réservant le préfixe "chromo" aux couleurs jaune, orangé ou rouge. Sans doute, le préfixe "chloro" évoque-t-il la présence de chlorophylle dans des plastés, plutôt que la couleur verte de ceux-ci. Cette ambiguïté devient gênante lorsque certains auteurs parlent des "chloroplastes" des Algues Rouges, faisant sans doute référence à la chlorophylle qu'ils contiennent ou peut-être en considérant une analogie de fonction avec les chloroplastes des Plantes (terrestres). Si maintenant on se réfère aux propriétés des plastés eux-mêmes, il apparaît que les proplastés, les amyloplastés et les protéoplastés peuvent être désignés sous le nom de leucoplastés puisque ces plastés sont très souvent incolores. Certains auteurs en particulier ne distinguent pas, à tort, leucoplastés et amyloplastés. Il nous paraît pourtant utile de désigner les plastés d'après leur contenu le plus évident à l'observation.

"Tonoplaste", "phragmoplaste", "kinétoplaste", "blépharoplaste". Les plastés authentiques sont des organites bien délimités par deux membranes. Ils sont doués de continuité génétique grâce à la possession d'un génome et d'un système de synthèse protéique. Ils sont caractérisés par leur capacité à former des lamelles chlorophylliennes. Les termes ci-dessus où la racine "plaste" apparaît, désignent des organites cellulaires dont on sait maintenant -en particulier grâce à la microscopie électronique- qu'ils n'ont aucun rapport avec les plastés. Il serait donc souhaitable de voir leur emploi régresser puis disparaître. Dans cette optique, nous avons parlé de "tonolème" pour désigner la membrane des vacuoles (au lieu de "tonoplaste") et de nucléoïde mitochondrial des Hémoflagellés (au lieu de "kinétoplaste"). De même le terme de "phragmoplaste" désigne en réalité l'ébauche d'une nouvelle paroi ou cloison et les "blépharoplastes" sont des corpuscules basaux de cils.

II - PLASTES DES PETALES

Les pétales sont des organes caducs qui évoluent rapidement à partir d'ébauches formées dans les boutons floraux. Leur développement débute au moyen d'une prolifération cellulaire se produisant dans le méristème floral et dans les ébauches. Il s'achève par un phénomène de sénescence qui mène au dessèchement final. Les pétales sont de plus des organes très différenciés au point de vue histologique. Dans les pétales d'une fleur éclosée, outre les tissus vasculaires, il faut distinguer les épidermes sans stomates ainsi que le tissu interne. Les cellules de ce tissu sont séparées par de grands méats et possèdent une grande vacuole.

Pour décrire les plastes des pétales et comprendre leur développement, nous sommes arrivés à la conclusion qu'il est toujours utile d'établir les distinctions suivantes :

1° - Distinguer les trois étapes successives du développement du pétale :

- a-la formation et la croissance des ébauches qui sont en général de couleur verte (les proplastes se différencient en jeunes chloroplastes puis en chloroplastes adultes)
- b-la transition au cours de laquelle se produit une atténuation puis une disparition de cette couleur verte (les chloroplastes dont le système lamellaire régresse et disparaît peuvent contenir à ce stade un ou plusieurs grains d'amidon)
- c-la pigmentation définitive de la fleur éclosée (à ce stade les pétales contiennent des plastes régressés à l'état de "reliques" ou bien des chromoplastes.

2° - Distinguer les pétales dont la couleur est donnée exclusivement par des chromoplastes, les pétales dont la couleur est due uniquement à des pigments vacuolaires. Il existe de plus des pétales dont les couleurs multiples sont dues à une combinaison des deux systèmes de pigmentation. La présence de tel ou tel type de chromoplastes dans les pétales, pourrait éventuellement être mise en parallèle avec des données taxonomiques. Ainsi il serait intéressant de connaître l'extension systématique des chromoplastes à enveloppe lipidique pigmentée, tels qu'ils ont été observés dans la jonquille (*Narcissus pseudonarcissus* L.) (Pl. 68).

3° - Distinguer les cellules du tissu interne, des cellules épidermiques. Ces cellules ne remplissent pas les mêmes fonctions et n'ont pas les mêmes types de plastes. (Cette remarque est aussi valable pour les feuilles, les fruits et d'une manière générale pour tous les organes pourvus d'un épiderme).

Les trois distinctions que nous venons de faire (étapes chronologiques du développement, diversité d'ordre taxonomique, différenciation histo-cytologique) semblent être vérifiées dans le cas de tous les plastes comme nous essaierons de le montrer ci-dessous.

II - LES PROTEOPLASTES DU PHLOEME DES ABIETACEAE

1°) Problèmes d'ordre biophysique.

Considérons d'abord les protéoplastes du douglas (*Pseudotsuga menziesii* Mirb.). L'inclusion A se présente sous la même forme dans les cellules proconductrices et les éléments criblés, aussi bien dans les coupes transversales que dans les coupes longitudinales. La seule image à limites nettes sur les clichés est une section transversale de lentille biconvexe. Une forme lenticulaire est donc une approximation morphologique vraisemblable pour cette inclusion, mais ne préjuge pas du système cristallin.

L'inclusion B montre par contre des changements considérables de sa forme et de sa texture. Dans les cellules les moins différenciées sa forme est vraisemblablement celle d'une courte baguette de section hexagonale (inclusion B1). Sa longueur serait toutefois variable selon les plastes. Cette baguette rigide serait constituée de fibres allongées, parallèles et de longueur indéterminée. Sa structure physique serait celle d'un cristal solide capable de déformer les enveloppes du plaste malgré les contraintes que celles-ci peuvent exercer. A un stade plus avancé de la différenciation des cellules proconductrices, l'inclusion solide et rectiligne au départ, se tordrait en forme d'arc, tout en gonflant par suite d'une hydratation de plus en plus prononcée. La forme arquée serait due aux contraintes exercées par les membranes enveloppes du plaste. Au stade final B3, l'inclusion n'étant plus soumise aux contraintes de ces enveloppes, celles-ci ayant éclaté, l'inclusion prend une forme globuleuse, avant de se désorganiser puis de se dissoudre dans la sève.

Il est vraisemblable que les stades B2 et B3 constituent une pseudo-morphose cholestérique de fibres présentant dans l'espace une torsion régulière et progressive les unes par rapport aux autres (Bouligand, 1972, 1975). Sous ses formes B2 et B3, l'inclusion B existerait à l'état de cristal-liquide, transition entre l'état B1 solide et l'état liquide réalisé une fois que la dispersion est achevée dans la sève. Toutefois, il reste à démontrer que les stades B2 et B3 sont bien biréfringents. Des inclusions biréfringentes souvent désignées sous le nom de "slime" par les auteurs anglophones, sont connues dans les tubes criblés de plusieurs Angiospermes (Buvat, 1960, 1963; Behnke, 1972; Cronshaw et Esau, 1967, 1968; Esau, 1969). Ces inclusions protéiques pourraient aussi sans doute s'interpréter en termes de cristaux-liquides. Leurs changements de structure ne sont pas sans rappeler ceux que nous décrivons ici.

L'inclusion A et l'inclusion B sous sa forme B1 sont digérées par les protéases; par contre, les fibres des inclusions B2 et B3 ne le sont pas. Malgré cette dernière observation il est très vraisemblable que les deux inclusions soient de nature protéique. L'inclusion A et l'inclusion B1 étant des solides seraient moins bien imprégnées par l'épon et dans les cas où elles présentent une surface d'attaque pour la solution protéasique, seraient facilement détruites. Par contre, les fibres des inclusions B2 et B3 étant complètement enrobées d'épon, seraient peu accessibles aux protéases utilisées. Ainsi le changement de texture physique de l'inclusion B augmenterait le degré d'imprégnation par la résine et inversement diminuerait la possibilité d'action des protéases. Anderson et André (1968) ont d'ailleurs montré que des structures manifestement protéiques pouvaient ne pas être digérées par des protéases.

Rétrospectivement, le douglas *Pseudotsuga menziesii*, semble avoir constitué un matériel tout à fait favorable pour l'interprétation physique des deux inclusions. En effet, dans les autres espèces d'*Abietaceae* qui ont été étudiées, il n'a pas été observé d'inclusion B sous une forme cristal-solide. Par analogie, l'interprétation fournie pour le douglas demeure toutefois valable pour le contenu protéique de ces autres protéoplastes.

2 °) Intérêt systématique.

Les études antérieures de Esau (1969) et d'une manière plus générale de Behnke (1972), ont montré que des protéines condensées de types bien précis se rencontrent dans les plastes des tubes criblés de groupes systématiques bien définis. Ainsi les plastes des tubes criblés des Monocotylédones contiennent des cristaux cunéiformes. Chez les Caryophyllales, les plastes de ces mêmes cellules contiennent un anneau protéique fibreux (Esau, 1965, 1969; Behnke, 1972). Des inclusions protéiques sont également rencontrées à ce même niveau chez les *Annonaceae*, *Canellaceae*, *Calycanthaceae*, *Aristolochiaceae*, *Ulmaceae* et un bon nombre de *Mimosaceae*, *Caesalpiniaceae* et *Fabaceae* (Behnke, 1972).

Chez les Gymnospermes, plusieurs travaux utilisant surtout diverses espèces du genre *Pinus* ont déjà permis de noter la présence de cristaux polyédriques et de fibres protéiques dans le stroma des plastes des cellules criblées et des cellules proconductrices. Les deux types de protéines (cristalline et fibreuse) sont visibles dans le cliché 2 de Murmanis et Evert, relatif à *P. strobus* (1966). Chez *P. pinea*, Wooding (1966, 1968), note que les inclusions striées des plastes permettent de reconnaître les cellules proconductrices. Srivastava et O'Brien utilisant *P. strobus*, observent eux aussi les cristalloïdes protéiques et proposent que les fibres des éléments conducteurs dérivent du stroma fibreux des plastes ou du reticulum endoplasmique (Srivastava et O'Brien, 1966). En utilisant les aiguilles de *P. silvestris*, Parameswaran (1971) illustre mieux la présence des deux types de protéines dans les plastes des éléments criblés et la libération de la protéine fibreuse dans la lumière de ces cellules par dégradation des plastes. Chez *P. nigra*, Campbell (1972) observe des tourbillons fibreux dans la lumière des cellules criblées du phloème des aiguilles. Enfin, Harris décrit ces mêmes tourbillons chez *Pinus strobus* et *Picea abies* (1972). Il explique aussi leur origine à partir d'amas fibreux présents dans les plastes des éléments criblés en cours de différenciation.

Si nous ajoutons nos propres observations à ces données, il apparaît que tous les protéoplastes du phloème des *Abietaceae* contiendraient des protéines fibreuses organisées en pseudomorphose cholestérique plus ou moins évidente. Ces protéines fibreuses pourraient former un cristal-solide dans certains plastes de *Pseudotsuga menziesii*. Ces protéoplastes contiendraient de plus des inclusions en cristal-solide d'une forme donnée suivant le taxon considéré. Il semble que chez les espèces du genre *Pinus* il y aurait plusieurs inclusions polyédriques de petite taille au sein de chaque plaste. Chez *Cedrus* il y aurait une seule inclusion en cristal-solide de forme ovoïde. Chez *Larix* et *Pseudotsuga*, dont on sait qu'ils font partie d'un même phylum (De Ferré, 1950), l'inclusion en cristal-solide aurait une forme lenticulaire.

Ajoutons que l'absence d'un cristal dans le stroma d'un plaste ne permet pas de déduire l'absence de la protéine correspondante dans ce même stroma. En effet, celle-ci peut ne pas avoir cristallisé. Certains traitements (en particulier la déshydratation) peuvent faire cristalliser *in vivo* une protéine

stromatique jusque là indécélable dans les coupes de microscopie électronique (Wrischer, 1973). Signalons enfin que des espèces de Gymnospermes appartenant à d'autres familles que les *Abietaceae*, à savoir des *Cupressaceae*, des *Taxodiaceae*, des *Araucariaceae* et des *Taxaceae* n'ont révélé aucun protéoplaste dans leur phloème. Une publication récente de Behnke confirme nos observations (Behnke, 1974).

3°) Autres problèmes.

En discutant la physiologie du phloème (1ère partie), nous avons déjà émis des doutes quant au rôle que pourraient jouer les fibres protéiques dans la translocation du saccharose et des substances qui se déplacent comme lui dans les tubes criblés. Le rôle physiologique -s'il y en a un- des protéines des plastes que nous décrivons ici, reste donc énigmatique. L'hypothèse la plus vraisemblable est que ces protéines en se dissolvant dans la lumière des éléments criblés, entrent dans la composition du colloïde protéique qui remplit ces éléments criblés.

En terme de code génétique, la question se pose de savoir par quel acide nucléique ces protéines sont codées (DNA nucléaire ou DNA plastidial) et au niveau de quels ribosomes se fait la traduction (ribosomes des plastes ou ribosomes hyaloplasmiques). L'utilisation d'inhibiteurs spécifiques des synthèses protéiques pourrait éventuellement apporter des réponses à ce problème. En effet, il n'est pas évident que ces protéines soient codées et synthétisées dans les plastes eux-mêmes.

Dans son article sur les plastes du phloème des Gymnospermes, Behnke (1974, p 10), avance l'idée que les tubes criblés en général contiennent des plastes intacts. Il pense que les restes de plastes observés par les autres auteurs, résultent d'un artefact de fixation entraînant la rupture des plastes. A notre avis, cette opinion est erronée et coïncide mal avec les grandes lignes de la différenciation des éléments criblés en général. Si l'on se limite au cas des plastes étudiés ici, il nous semble évident qu'à la différenciation en protéoplastes, fait suite une perte de viabilité et une dégradation totale.

III - REFLEXIONS SUR LA DIVERSITE DES PLASTES

Dans les planches 63 à 90 nous avons présenté des proplastes, des leucoplastes, des amyloplastes, des chloroplastes, des étioplastes, des chromoplastes, des plastes de cellules glandulaires, des protéoplastes, des plastes granaires, des plastes à thylakoïdes isolés, des plastes à thylakoïdes par trois, à pseudogranums, à vrais granums, avec pyrénoloïde ou sans pyrénoloïde, etc... Les documents produits n'avaient pas pour but d'être exhaustifs mais seulement d'illustrer la diversité structurale des plastes. En effet, aux trois grands types que la microscopie photonique permettait de reconnaître classiquement (leucoplastes, chloroplastes, chromoplastes) la microscopie électronique a ajouté de multiples variantes dont la liste n'est sans doute pas close. De ce foisonnement des formes et des structures, quelles idées générales peut-on tirer?

La réflexion théorique nous amène à rechercher une corrélation entre certaines variations des plastes et les quatre faits biologiques suivants : 1) "l'âge" des plastes et les étapes de leur développement, 2) la taxonomie des Plantes (terrestres) et des Algues, 3) la différenciation cellulaire, 4) l'influence des facteurs physico-chimiques du milieu où vivent les plastes.

1°) "L'âge" des plastes et les étapes de leur développement.

Les proplastes représentent essentiellement la forme de multiplication des plastes dans les zones méristématiques des Plantes et des Algues hétéroplastidiées. C'est à partir de ces plastes déformables et de petite taille que se produit la différenciation accompagnée d'une augmentation de taille. Chez les Plantes et certaines Algues, plusieurs voies de différenciation sont possibles mais la plus importante et la plus caractéristique est celle qui amène la formation de plastes à lamelles chlorophylliennes, capables de réaliser la photosynthèse (chloroplastes proprement dits des Plantes, des Algues Vertes et des Algues Brunes, rhodoplastes des Rhodophycées, plastes chlorophylliens des autres Algues). Chez les Plantes et à un degré moindre, chez certaines cellules des Characées, les chloroplastes se transforment tardivement en chromoplastes ce qui correspond à une sénescence précédant la mort de cette lignée de plastes. Ainsi, dans cette séquence, trois principales étapes peuvent être mises en évidence dans la vie des plastes : un stade indifférencié au cours duquel se produit la multiplication, un stade différencié et fonctionnel, un stade de sénescence précédant la mort. Ces trois étapes se réalisent en même temps que des transformations concomitantes affectant la cellule végétale où vivent ces plastes.

Un tel schéma demande à être nuancé et complété sur plusieurs points. Par exemple, il est fréquemment observé que des chloroplastes (plastides adultes différenciés) peuvent se diviser. Cette division est même de règle chez les Algues unicellulaires appartenant à des populations en croissance. De plus, la différenciation est réversible dans des conditions particulières -naturelles ou expérimentales- concernant les Plantes, puisque leurs cellules sont considérées comme totipotentes. La sénescence avec formation de chromoplastes n'est pas toujours une étape bien marquée. Quant aux autres voies de différenciation il convient d'évoquer celles qui amènent la formation de leucoplastes (souvent amylofères), des protéoplastes de phloème, des leucoplastes de cellules glandulaires. Tous ces plastes différenciés dérivent chronologiquement de proplastes (jeunes, indifférenciés, capables de se multiplier) et précèdent l'apparition de plastes séniles, incapables de se diviser, qui vont se dégrader et mourir.

En résumé, l'existence de trois étapes successives (plastides jeunes indifférenciés, plastides adultes différenciés, plastides sénescents dégradés) nous semble être une règle très générale dont la séquence (proplaste → chloroplaste → chromoplaste) fournit un exemple classique. Il serait intéressant de tester son degré de généralité en prenant en considération le déroulement complet des cycles des Algues, dans les conditions favorables ou les conditions défavorables. Il n'est pas exclu que des Algues dites homoplastidiées puissent présenter des changements rappelant la séquence ci-dessus.

2°) La taxonomie.

Dans un précédent paragraphe concernant les protéoplastes du phloème des *Abietaceae*, nous avons déjà insisté sur la corrélation existant entre ces plastides et les données taxonomiques. D'une manière générale, les protéoplastes de phloème constituent un excellent exemple de corrélation entre structure des plastides et taxonomie. Comme il s'agit de protéines il sera intéressant de savoir si celles-ci sont codées par le génome plastidial ou le génome nucléaire.

Nous avons aussi évoqué le cas de certains chromoplastes qui n'existeraient qu'à l'intérieur de certains groupes donnés.

Mais c'est surtout au niveau des plastes adultes, différenciés, capables de photosynthèse, qu'une corrélation à grande échelle peut être établie entre la présence d'un type structural donné et l'appartenance à tel ou tel taxon. Ceci est évident et reconnu de longue date chez les Algues puisque la structure du plastidome tient une place importante dans leur systématique (Feldman, 1963). Ce plastidome pigmenté à l'avantage d'être facile à observer en microscopie photonique. Ainsi peut-on distinguer différents types de plastidome d'après le nombre des plastes par cellule, la position et la forme de ces plastes, leur taille, leur couleur, la présence éventuelle et la localisation de l'amidon, du pyrénolide ou du stigma. Exceptée la couleur des plastes, tous ces caractères peuvent aussi être reconnus en microscopie électronique. Cette technique a de plus l'avantage de permettre une description des constituants des plastes à une échelle beaucoup plus fine. Ceci a permis de mieux comprendre la structure des pyrénolides et surtout de décrire la disposition des membranes portant les pigments photosensibles.

Les études en microscopie électronique, ont surtout été conduites par Gibbs (1960, 1962a,b,c,d,e). Dodge expose également ce problème dans son ouvrage sur l'ultrastructure des cellules des Algues (Dodge, 1973). Il ressort de ces études comparatives que :

1°) les *Rhodophyceae* constituent par leurs plastes à thylakoïdes isolés, un groupe homogène et distinct de toutes les autres Algues

2°) les *Charophyceae* ont des chloroplastes analogues à ceux des Cormophytes en général

3°) entre ces extrêmes il est possible de disposer les plastes des Algues selon une série de complexité croissante concernant les associations de thylakoïdes du système lamellaire.

1	2	3	n	
thylakoïdes isolés	thylakoïdes par deux	thylakoïdes par trois	thylakoïdes groupés à plusieurs en pseudogranums	thylakoïdes groupés à plusieurs en granums vrais
<i>Rhodophyceae</i>	<i>Cryptophyceae</i>	(toutes les autres Algues)	<i>Chlorophyceae</i>	<i>Charophyceae</i>

Ce classement doit être considéré seulement comme un moyen mnémotechnique pour se rappeler la disposition des thylakoïdes dans les plastes d'Algues; en effet comme il ne présente qu'un des caractères utilisés dans le groupement des espèces de ce vaste groupe multiphyllétique que sont les Algues, il serait naïf et erroné d'en faire une série évolutive en reliant les termes par des flèches orientées de gauche à droite.

Etant donné que les plastes possèdent un système de synthèse protéique comprenant du DNA, des RNA, des ribosomes, des polymérases et d'autres enzymes liées à ce système, on peut se demander si la diversité structurale des plastes doit être attribuée à leur propre génome ou bien au génome des cellules dont ces plastes font partie. Il serait hasardeux d'avancer dès maintenant une réponse tranchée à cette question qui fait l'objet de nombreuses recherches en divers laboratoires. On sait en effet qu'à la fois des gènes plastidiaux et des gènes

nucléaires interviennent dans le codage de protéines nécessaires à l'élaboration des plastes (Swift et Wolstenholme, 1969; Genermont, 1971; Kirk et Tilney-Bassett, 1967, p 578; Control of organelle development, Symposium, 1969).

L'analogie des rhodoplastes et des Cyanophycées — tant au niveau structural que biochimique — suggère qu'en réalité ces organites et ces microorganismes procaryotes pourraient avoir une partie de leur génome homologue expliquant du même coup l'uniformité des plastes des Rhodophycées et leur dissemblance par rapport aux autres groupes. Cette analogie amène à accorder beaucoup d'importance au génome plastidial surtout chez les Algues.

3°) La différenciation cellulaire.

Dans les Plantes et à un degré moindre dans les Algues multicellulaires, il existe plusieurs types de tissus remplissant des rôles différents grâce à des structures spécialisées de leur cytoplasme et de leurs parois. Ce phénomène de différenciation histo-cytologique affecte particulièrement les plastes et il n'est pas rare que deux cellules voisines contiennent des plastes totalement différents. Ainsi les cellules stomatiques contiennent des plastes chlorophylliens alors que les autres cellules épidermiques ont des plastes "reliques"; ces dernières cellules se distinguent elles-mêmes des cellules à chloroplastes du parenchyme assimilateur sous-jacent; les cellules sécrétrices des canaux et poches résinifères contiennent des plastes sans lamelles alors qu'elles jouxtent fréquemment des cellules à plastes chlorophylliens; les protéoplastes de phloème semblent aussi appartenir à une lignée cellulaire bien distincte des cellules avoisinantes. On pourrait également citer les cellules endodermiques ou les cellules de la coiffe racinaire possédant de manière caractéristique des amyloplastes. Un autre exemple assez frappant est celui des chloroplastes agraires de la gaine périvasculaire des plantes dites "en C4". (Laetsch, 1968; Hatch et Slack, 1970; Brangeon, 1973).

Ici encore la question se pose de savoir quelle part de ces phénomènes doit être attribuée à l'activité de gènes nucléaires ou à l'activité de gènes contenus dans les plastes eux-mêmes. L'existence de ces deux génomes, qui certainement interagissent au sein d'une même cellule, complique singulièrement la recherche du déterminisme de la différenciation.

4°) L'influence des facteurs physicochimiques du milieu où vivent les plastes.

Le plus important de ces facteurs est, de très loin, la lumière qui agit qualitativement et quantitativement pour permettre l'élaboration du système lamellaire portant les pigments photosensibles. L'étude de ce problème a déjà donné lieu à une vaste littérature que nous ne détaillerons pas. Mentionnons un seul exemple qui se rattache aux documents présentés dans ce travail : les corps prolamellaires qui, chez les Plantes apparaissent dans la série réversible (proplast $\rightleftharpoons$ chloroplastes) lorsque ceux-ci évoluent à l'obscurité.

Un autre exemple de paramètre physique est la pesanteur en relation avec le géotropisme qui régule le port des Algues fixées et des Plantes. En discutant la physiologie du phloème (1ère partie) nous avons mentionné la distribution relative des chloroplastes et des amyloplastes d'organes de réserves. Considérés globalement, les amyloplastes sont situés plus bas que les chloroplastes aussi bien chez les Plantes (terrestres) aux organes hautement différenciés,

que chez une Algue verte unicellulaire comme *Acetabularia*. Nous soupçonnons intuitivement qu'il doit exister une interprétation biophysique de ce fait d'observation.

Il existe de nombreux autres facteurs qui agissent sur les plastes : des facteurs physiques (température, pH, humidité et dessèchement, radiations ionisantes), des facteurs chimiques expérimentaux (antibiotiques et herbicides) ou naturels (carences en oligoéléments, toxines d'origine bactérienne ou fongique).

On peut aussi penser que les plastes d'un tissu donné sont influencés par les conditions que crée le reste de la plante, par l'intermédiaire des hormones et des métabolites disponibles. Il doit exister au sein d'une même plante, des corrélations physiologiques ayant un retentissement sur la différenciation des plastes d'un organe donné.

Conclusion

Au cours de cette étude nous avons constaté que les plastes manifestent une étonnante diversité de structures et de fonctions, en réponse à l'action de multiples facteurs. Leur adaptabilité est sans doute liée à la quantité relativement importante d'ADN génétiquement actif qu'ils contiennent. Nous avons essayé de regrouper les paramètres auxquels la structure des plastes peut être reliée : "l'âge" des plastes, la taxonomie, la différenciation histo-cytologique, le milieu. Les corrélations avec la taxonomie et la différenciation cellulaire appuyées par les données expérimentales de la littérature amènent à reconnaître le rôle déterminant des génomes nucléaire et plastidial. Etant donné l'intégration qui existe entre ces génomes au sein d'une même cellule il est difficile d'attribuer tel caractère du "phénotype" plastidial à l'un ou l'autre de ces génomes. Par ailleurs ceux-ci agissent en même temps que les paramètres du milieu, cependant que les plastes vieillissent. L'interaction de tout ces paramètres rend l'étude des plastes extrêmement ardue et l'intégration didactique des résultats est généralement laborieuse. Il semble que pour faciliter l'exposé pédagogique et améliorer l'analyse expérimentale des Eucaryotes plastidiés, beaucoup de personnes sont amenées à considérer les plastes comme des symbiotes permanents ou des organites semi-autonomes.

DISCUSSION D'ENSEMBLE

ET

CONCLUSIONS

DISCUSSION D'ENSEMBLE

ET

CONCLUSIONS

- I - RESULTATS DE L'ETUDE SEPARÉE DES GROUPES.... p. 252
 - 1°) Etude comparative des Mycoplasmes phytopathogènes.... 252
 - 2°) Etude comparative des nodules racinaires et de leurs Bactéries.... 253
 - 3°) Etude comparative des plastes.... 255
- II - INTERACTIONS AU SEIN DE LA PLANTE.... 257
 - 1°) Mycoplasmes et Rhizobium 257
 - 2°) Mycoplasmes et plastes.... 257
 - 3°) Plastes et Bactéries des nodules racinaires (Rhizobium ou Actinomycètes). 261
 - 4°) Rôle médiateur du phloème.... 262
- III - APPARTENANCE A UN MEME NIVEAU D'ORGANISATION ET THEORIE SYMBIOTIQUE 264
 - 1°) La théorie symbiotique. Aperçu historique 264
 - 2°) Remarques épistémologiques 265
 - 3°) Applications concernant la théorie symbiotique et le niveau
(Procaryotes - mitochondries - plastes).... 266
- IV - CONCLUSIONS 269

I - RESULTATS DE L'ETUDE SEPARÉE DES GROUPES

1° - Etude comparative des Mycoplasmes phytopathogènes.

Le terme "mycoplasme" tire son origine de la forme filamenteuse, parfois ramifiée, que prennent certaines cellules de ce groupe. Ceci avait été observé dès les premières études sur les Mycoplasmes en microscopie photonique. Le problème d'une conversion de cellules sphériques ou ovoïdes en cellules filamenteuses a été plusieurs fois repris depuis lors sans que l'on ait pu découvrir le déterminisme exact du phénomène.

L'idée d'un cycle de développement est maintenant abandonnée et l'on tend plutôt à expliquer ce phénomène par un vieillissement des cellules ou par l'action de certains paramètres physico-chimiques du milieu de culture (ou du milieu de montage pour l'observation). Bien qu'on ne sache donc pas l'expliquer entièrement, il est admis que le phénomène est rendu possible par l'absence de paroi. Ceci a amené Edward et Freundt (1967) à proposer le terme plus général de "Mollicutes" pour désigner le groupe.

Dans notre étude sur les Mycoplasmes phytopathogènes nous avons eu l'occasion de vérifier cette propriété dans le cas des Mycoplasmes parasitant le phloème de certaines giroflées (Planche 5, fig. a et Planche 15). Dans le premier cliché, à l'intérieur d'un même tube criblé, sont visibles à la fois des cellules sphériques ou ovoïdes et au moins une cellule filamenteuse. Cette hétérogénéité morphologique de la population est un des aspects du pléomorphisme des Mycoplasmes (ou Mollicutes). Ce terme désigne la variabilité structurale des individus (ici des cellules) d'une population donnée (une seule espèce présumée). La planche 15 illustre un autre aspect de la variabilité morphologique des Mycoplasmes (déformabilité ou fluidité des cellules sous l'effet d'une contrainte physique). Dans ce dernier cas au moins, la variabilité reflète les propriétés physiques de la membrane des Mycoplasmes, à un même stade de développement.

Un troisième aspect du pléomorphisme des Mycoplasmes est lié aux étapes de leur développement. Nous avons distingué une phase de multiplication active (corroborée par l'incorporation de thymidine témoignant d'une synthèse d'ADN) et une phase de sénescence qui précède la mort de la population considérée. Dans la première phase, les cellules sont homogènes en taille, structure et forme (excepté

ce qui pourrait être des images de division); dans la seconde les cellules sont très hétérogènes pour ces mêmes critères. La plupart de ces dernières ont vraisemblablement perdu leur viabilité et correspondent à des formes résiduelles (microparticules).

Le pléomorphisme des Mycoplasmes (ou Mollicutes) a certainement son origine dans la constitution physique et chimique de la membrane plasmique des cellules. Celle-ci est le résultat, à toute étape du développement (croissance, division, sénescence, mort) d'une interaction entre le génome propre à l'espèce et l'influence épigénétique du milieu.

Mais à côté du pléomorphisme que nous venons de décrire, l'étude comparative des Mycoplasmes phytopathogènes a montré qu'au point de vue ultrastructural, il n'existe pas de différences pertinentes d'ordre systématique entre les Mycoplasmes de l'échantillon étudié. De plus, les Mycoplasmes de cet échantillon ressemblent à la grande majorité des Mycoplasmes phytopathogènes étudiés par d'autres auteurs. Ceci est encore confirmé par le fait qu'au cours de leur développement dans les Insectes vecteurs, ces Mycoplasmes ne montrent aucun caractère ultrastructural propre à distinguer différentes espèces. (Maillet, 1970; Maillet et Gouranton, 1970, 1971; Giannotti et coll., 1968). L'exception à cette observation très générale est évidemment constituée par les Spiroplasmes caractérisés par leurs filaments hélicoïdaux (Planche 8). En dépit de cette exception, la classification des Mycoplasmes de plantes —de tous les Mycoplasmes d'ailleurs— échappe très vite aux compétences des microscopistes pour relever de techniques plus fines d'analyses comme la biochimie et l'immunologie. Rappelons cependant que la microscopie électronique, utilisée correctement, permet de reconnaître un Mycoplasme en le distinguant des autres classes de Procaryotes ou d'autres objets biologiques avec lesquels il pourrait être confondu.

2° - Etude comparative des nodules racinaires et de leurs Bactéries.

L'existence de deux types de nodules racinaires fixateurs d'azote est connue depuis longtemps. Des *Rhizobium* produisent les nodules de Légumineuses. Des Actinomycètes forment les nodules d'une quinzaine de genres de non-Légumineuses dont *Alnus* a souvent été pris comme type (Bond, 1974).

L'étude des nodules de Légumineuses a permis tout d'abord de mettre en évidence des caractères ultrastructuraux pertinents du point de vue de la taxonomie du genre *Rhizobium*. Rappelons brièvement que la structure du nucléoïde des bactéries-bactéroïdes permet de distinguer facilement les nodules où sont impliqués des *Rhizobium* à croissance lente et ceux où sont impliqués des *Rhizobium* à croissance rapide. Sur ce point particulier la corrélation entre un caractère des bactéries-bactéroïdes des nodules et des caractères observés dans ces mêmes *Rhizobium* cultivés *in vitro*, suggère fortement que la différence est due au génome propre de ces bactéries.

L'étude comparative des nodules de Légumineuses a aussi montré que dans certains groupes d'inoculation correspondant à des espèces existantes (*R. trifolii* Dangeard, *R. leguminosarum* Frank, *R. meliloti* Dangeard, *R. torulosum* Dangeard) ou bien dans de nouveaux groupes qu'il faudrait créer, les bactéroïdes ont une forme caractéristique. Dans ce cas on ne sait pas si les différences constatées doivent être imputées au génome bactérien ou au génome des plantes-hôtes. L'étude expérimentale des transgressions de groupe devrait nous permettre de savoir lequel des deux joue un rôle prépondérant ou plus vraisemblablement dans quelle mesure ils inter-agissent.

L'échantillon de nodules testés concernait environ 40 espèces différentes de Légumineuses. Ce nombre est faible par rapport à l'ensemble des Légumineuses nodulées. Il nous semble cependant qualitativement suffisant pour servir de base à une généralisation ultérieure. En cumulant les deux types de résultats ci-dessus, on peut dire que la microscopie électronique a fourni des données intéressantes pour la taxonomie du genre *Rhizobium* et suggère une voie d'approche pour l'analyse des relations *Rhizobium*-Légumineuses.

En ce qui concerne les nodules à Actinomycètes, l'échantillon de plantes nodulées appartenant à ce type a été jugé insuffisant pour postuler l'existence de caractères ultrastructuraux spécifiques (propres à d'éventuelles espèces différentes).

L'étude comparative des nodules racinaires fixateurs d'azote a aussi permis de découvrir (ou vérifier pour le cas des Actinomycètes), les étapes chronologiques du développement des bactéries une fois qu'elles ont pénétré dans les cellules de la plante-hôte. Les Actinomycètes se développent de manière séquentielle

et ils peuvent achever un cycle par la formation de granules considérés comme des formes de résistance et de dissémination. Par contre, les *Rhizobium* subissent, après leurs dernières divisions, une différenciation irréversible qui s'accompagne d'une perte de la viabilité et s'achève par la mort concomitante des bactéries et des cellules-hôtes.

D'autres données comparatives ont déjà été présentées dans la partie consacrée aux nodules (architecture des nodules, différenciation histo-cytologique, différenciation concomitante des bactéries et de leurs cellules-hôtes, sens de la différenciation par rapport aux cellules méristématiques apicales, position des bactéries symbiotiques par rapport aux constituants de la cellule-hôte).

3° - Etude comparative des plastes.

En dépit de la brièveté du mot "plaste", c'est ici que la plus grande diversité a été constatée.

L'étude des protéoplastes de phloème a confirmé et précisé une idée qui avait été avancée par Esau (1965, 1969) et reprise par Behnke (1971, 1972, 1975). L'occurrence et la structure des inclusions protéiques de ces plastes peuvent être mises en parallèle avec des données taxonomiques. Cependant, il n'a pas été possible de dire si les différences constatées devaient être imputées au génome plastidial ou au génome nucléaire des plantes en question, et si ces protéines étaient synthétisées ou non dans les plastes.

Outre ces inclusions protéiques, nous avons vérifié que d'autres constituants des plastes pouvaient montrer une corrélation avec des données taxonomiques. En particulier, le système lamellaire portant les pigments photosensibles peut être utilisé pour distinguer des phylums parmi les Eucaryotes plastidiés. Les *Rhodophyceae* en constituent un exemple typique, cependant que la ressemblance des chloroplastes des Charophycées et à un degré moindre des plastes des Chlorophycées, avec les chloroplastes des Plantes (terrestres) amènent des auteurs à postuler l'existence du phylum des Chlorophytes, groupant ces Algues et l'ensemble des Plantes (terrestres). Certains caractères des plastes ont une valeur systématique au niveau des genres (exemple typique des plastes de Zygothricées), voire même au niveau des espèces.

D'autres différences constatées dans l'ultrastructure des plastes, sont liées aux étapes successives de leur développement. Le cas le plus typique est la séquence (proplaste → chloroplaste → chromoplaste) qui caractérise les plastes du tissu assimilateur des feuilles. Ce processus qui recouvre lui-même les phénomènes de multiplication des plastes, leur différenciation, leur sénescence et leur mort, a vraisemblablement une existence très générale dans tous les phylums d'Eucaryotes plastidiés dans la mesure où l'on prend en considération tous les stades de leur cycle de développement et sous diverses conditions de milieu.

La diversité structurale des plastes a aussi été reliée à la différenciation histo-cytologique des Algues et des Plantes. Chez les Algues ce phénomène est peu important et limité aux Algues hétéroplastidiées où l'on peut distinguer des plastes adultes amylofères. La formation de chromoplastes chez les Charophycées peut aussi être reliée à ce phénomène. C'est cependant chez les Plantes (terrestres) que les plastes adultes peuvent être différenciés de plusieurs manières, ce qui les amène à jouer des rôles différents selon la fonction du tissu considéré (épiderme, stomate, glande, tissu chlorophyllien assimilateur, cellules proconductrices devenant tubes criblés, parenchyme de réserve, cellules de la coiffe racinaire, endoderme, etc...). Le déterminisme de cette différenciation synchrone de cellules voisines est sans doute du même type que la différenciation cellulaire chez les Animaux mais le phénomène est ici plus compliqué puisqu'il résulte de l'intégration de trois programmes génétiques différents (le génome nucléaire, le génome mitochondrial et le génome plastidial). Signalons le rapprochement qui peut être fait entre l'association plaste-reticulum des cellules glandulaires et cette même association chez certaines Algues. L'analogie est telle que l'on peut vraisemblablement attribuer un rôle sécréteur à ces plastes d'Algues enveloppés par du reticulum endoplasmique (Gibbs, 1962 c).

Le dernier type de paramètres montrant une corrélation avec la structure des plastes est constitué par les conditions du milieu où vivent ces plastes. C'est la lumière qui joue le rôle inducteur le mieux connu.

II - INTERACTIONS AU SEIN DE LA PLANTE

1° - Mycoplasmes et *Rhizobium*.

Les mycoplasmes ont d'une manière générale, des exigences nutritionnelles qualitativement et quantitativement importantes en raison du faible rendement de certaines chaînes métaboliques (Rodwell, 1974). On peut donc penser que les mycoplasmes des plantes prélèvent dans le phloème de leur hôte une quantité importante de métabolites circulants. Lorsque ces mycoplasmes viennent à contaminer le phloème des nodules après avoir envahi les parties aériennes, il est vraisemblable que la quantité de saccharose et d'autres métabolites disponibles pour les *Rhizobium* doit baisser. Ceci pourrait expliquer la formation des nodules nombreux, petits et inefficients, où des bactéroïdes dégénèrent en plus ou moins grand nombre (Planche 53).

2° - Mycoplasmes et plastes.

Les plantes infectées par des Mycoplasmes sont souvent caractérisées par un jaunissement des rameaux feuillés à l'origine du terme de "jaunisse" ou bien par l'apparition de "pétales verts". Ces pigmentations anormales ont leur origine au niveau des plastes qu'il était, de ce fait, intéressant d'étudier.

a - Influence sur les chloroplastes des parenchymes chlorophylliens : "la jaunisse".

Ce phénomène a été illustré dans la planche 73. Une étude du même type a été réalisée par Giannotti et Devauchelle (1970) chez *Trifolium repens* L. atteint de phyllodie. Dans le cas que nous avons étudié, on peut considérer la jaunisse comme une sénescence prolongée qui fait passer progressivement les feuilles rabougries de la plante malade par les couleurs jaune, blanche et brune. La couleur jaune est due à la disparition de la chlorophylle et des lamelles plastidiales d'une part, à l'apparition de globules contenant des caroténoïdes dissous d'autre part. La couleur blanche pourrait être due à une régression plastidiale encore plus poussée dans des cellules au cytoplasme totalement dégradé et "vidé".

Le jaunissement d'une plante infectée par des mycoplasmes est plus ou moins tardif. Il résulte vraisemblablement d'une dégradation de toutes les fonctions de la plante par suite du prélèvement de métabolites opéré par les Mycoplasmes.

b - Influence sur les plastes des pétales : formation des "pétales verts".

Il est difficile de suivre l'ontogenèse individuelle de chacun de ces "pétales" tératologiques en raison du fait que l'infection à mycoplasmes est progressive et relativement imprévisible dans les inflorescences. Elle se manifeste au fur et à mesure que de nouvelles fleurs éclosent. Deux cas ont été étudiés : celui de la giroflée (*Cheiranthus (Erysimum) allionii*) où la couleur des pétales est donnée par des chloroplastes à globules de caroténoïdes et celui de la pervenche (*Vinca rosea* L.) où les pétales sont colorés par des anthocyanes dissoutes dans la vacuole des cellules épidermiques. Afin de présenter aussi clairement que possible ces deux cas nous rappellerons la structure et l'évolution des plastes dans les pétales sains.

Cas de la giroflée (*Cheiranthus (Erysimum) allionii* Hort. var. Jaune Naine Safran).

Pétales sains. Dans les ébauches vertes de pétales du bouton floral non ouvert, la distinction entre épidermes et tissu interne n'est pas encore marquée. Elle apparaît progressivement au fur et à mesure que l'ébauche se développe. Dans les cellules peu vacuolisées, au cytoplasme dense, les chloroplastes s'accroissent en volume et développent leur système de lamelles chlorophylliennes. Si l'on observe maintenant, après fixation, une ébauche de pétale à la phase de transition, lorsqu'une légère teinte jaune pâle commence à apparaître, les épidermes se sont différenciés du tissu interne. Ces cellules épidermiques (et particulièrement celles de l'épiderme supérieur), forment des dômes recouverts d'une cuticule lisse (Pl. 69 et Pl. 70, fig. a). Les cellules du tissu possèdent une grande vacuole et ménagent entre elles de très larges méats. Les plastes des cellules épidermiques sont groupés au pôle basal dans le cytoplasme qui entoure le noyau. Ces plastes contiennent à la fois quelques rares lamelles chlorophylliennes, de l'amidon et des globules qui commencent à se former. Les plastes du tissu interne sont des chloroamyloplastides de faible volume. Enfin, si l'on observe le pétale devenu jaune-safran (Pl. 70, fig. d, e, f), on constate la présence de chromoplastes à globules de caroténoïdes. Ces chromoplastes sont particulièrement bien représentés dans les cellules épidermiques. De plus, ils sont très déformés, vraisemblablement étirés.

Pétales virescents et phyllodiés. Seuls les plastes typiques ont été illustrés dans la planche 71.

Dans les pétales jaunes du bas de l'inflorescence, les cellules des épidermes contiennent des chromoplastes ovoïdes et les cellules du tissu interne renferment également des chromoplastes mais à globules plus petits. Dans ces pétales où le phloème est contaminé par de nombreux mycoplasmes, l'action de ces parasites est seulement décelable par la forme arrondie que gardent les chromoplastes. Ils ne s'étirent pas comme dans le pétale sain.

Dans les pétales qui montrent un tout début de virescence (coloration d'un jaune peu intense et légères marbrures vertes par endroits), les plastes du tissu interne sont des chloro-chromoplastes possédant à la fois des globules abondants et un système granulaire bien caractérisé. Les plastes des épidermes sont des chromoplastes moins développés que dans le cas précédent.

Dans les "pétales" verts qui apparaissent plus haut dans l'inflorescence, le tissu interne contient des chloroplastes typiques, les cellules épidermiques n'ont pas différencié des dômes du côté externe et elles contiennent de petits plastes renfermant eux-mêmes de petits globules osmiophiles. Ces "pétales" possèdent de plus des stomates. Ils ont donc pratiquement la structure de feuilles.

Cas de la pervenche (*Vinca rosea* L.)

Pétales sains. Les premiers stades de cette ontogenèse chez *Vinca rosea* ressemblent à ceux qui ont été décrits pour la giroflée (*Cheiranthus* (*Erysimum*) *allionii*). Le mode de développement des parois celluloses est le même. Les plastes évoluent également de la même façon jusqu'à la transition. La différence importante est qu'ici il ne se forme pas de globules dans les plastes au moment de la pigmentation définitive puisque celle-ci est due à des anthocyanes vacuolaires. Aussi bien dans les cellules épidermiques que dans le tissu interne, les plastes subissent une régression très importante de leur volume. Ils ne subsistent qu'à l'état de "reliques".

Pétales virescents et phyllodiés (mycoplasmes de la phyllodie du trèfle). Les plastes du tissu interne ne subissent pas de régression et se transforment en chloroplastes amenant ainsi la formation d'un mésophylle assimilateur analogue

à celui d'une vraie feuille. Quant aux plastes des épidermes, ils régressent de la même manière que dans un épiderme de feuille.

En résumé, de l'analyse des deux cas (giroflée et pervenche) on peut tirer les conclusions suivantes :

- la couleur verte des "pétales" est due à la présence de chloroplastes typiques.

- les colorations intermédiaires entre la couleur normale des deux types de pétales et la couleur verte des feuilles (autrement dit la virescence), est due à la superposition d'un tissu interne dont les plastes tendent à développer un système de lamelles chlorophylliennes et de l'épiderme du pétale dont la pigmentation tend à régresser.

- les phyllodies sont dues à l'action précoce des mycoplasmes sur des ébauches de pétales, qui, au lieu d'évoluer normalement, se différencient en organes assimilateurs grâce aux chloroplastes qu'ils contiennent. Nos observations nous suggèrent donc qu'il n'y a ici aucune régression des chromoplastes en chloroplastes, mais au contraire, une évolution monotrope des plastes (Frey-Wyssling et coll., 1956).

Pour rechercher le déterminisme physiologique du phénomène, on peut tout d'abord comparer l'action des mycoplasmes phytopathogènes sur les pétales, à d'autres cas de régression florale par rupture du photopériodisme normal (Chouard, 1950, 1951, 1957; Brulfert, 1965) ou par l'induction expérimentale de pétales verts et phyllodiés sous l'effet de l'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique (2,4-D) (Dupuy, 1963) ou bien encore par l'étude de la virescence naturelle de *Rosa viridis* (une rose à pétales verts étudiée par Gris en 1858). Dans ce dernier cas le déterminisme serait de nature génétique. Une étude préliminaire d'un échantillon provenant du Jardin du Thabor à Rennes, ne nous a pas permis d'y détecter des mycoplasmes. Il serait néanmoins intéressant de vérifier ce résultat par l'injection de tétracycline (s'il y a des Mycoplasmes dans la plante cet antibiotique devrait faire disparaître les symptômes ; si au contraire ceux-ci ne disparaissent pas, il y aurait de bonnes raisons de croire que l'absence de pigmentation normale des pétales de cette espèce est bien due à une mutation du génome nucléaire ou plastidial).

Cependant, les résultats obtenus à l'aide du 2,4-D, suggèrent une voie d'approche plus directe. Un premier type d'expériences consisterait à déterminer le contenu hormonal comparé d'un pétale normal, d'un pétale virescent et d'une feuille. Le deuxième type d'expériences consisterait à rechercher une éventuelle production (ou dégradation) d'hormones par des Mycoplasmes d'origine végétale incubés *in vitro*. En retour, un résultat positif dans ce domaine pourrait permettre de caractériser ces mêmes Mycoplasmes phytopathogènes. On peut présumer que l'auxine (AIA) et des cytokinines sont impliquées dans la formation des pétales verts, étant donné que les Mycoplasmes favorisent la persistance et le développement de lamelles chlorophylliennes dans les plastes de ces pétales.

La jaunisse et les pétales verts ne sont pas les seuls symptômes des mycoplasmoses végétales. Il en existe de multiples autres qui permettent de donner un nom à ces maladies (voir Tableau 1) (prolifération et balais de sorcières par levée de dormance de bourgeons latents, flétrissement, maladie bleue de la tomate, etc...). Cette énumération montre qu'il n'y a sans doute pas un mécanisme pathologique unique dans les mycoplasmoses des plantes. Au contraire, l'étude de la jaunisse et des "pétales verts" suggère d'attribuer ces deux symptômes à des perturbations différentes.

La jaunisse semble due au prélèvement parasitaire de métabolites essentiels par une population abondante de Mycoplasmes ayant de grandes exigences nutritionnelles (parasitisme trophique). Ce type de pathologie serait assez voisin des Mycoplasmoses animales qui se manifestent souvent par un dépérissement des animaux atteints.

Les "pétales verts" suggèrent plutôt une perturbation hormonale.

3° - Plastes et Bactéries des nodules racinaires (*Rhizobium* ou Actinomycètes)

La transformation d'azote atmosphérique moléculaire en azote réduit nécessite de grandes quantités d'énergie. On considère en effet qu'il faut environ 12 moles d'ATP pour réduire une mole d'azote (Mulder et Brotonegoro, 1974; Ljones, 1974). Cette énergie est fabriquée par photosynthèse dans les chloroplastes et véhiculée jusqu'au nodule sous la forme de saccharose par l'intermédiaire du phloème. Dans l'analyse des flux d'énergie au sein de la biosphère, ce transfert représente un maillon intéressant. La quantité d'énergie fournie par la photosynthèse est généralement limitante. En accroissant celle-ci, on

augmente la fixation d'azote comme l'ont montré les expériences de Hardy (1973) et Pate (1973) (discussion de ce problème par Quispel, 1974, p. 723). Il est aussi d'observation courante que les nodules ne se développent bien qu'au moment où les plantes ont un feuillage abondant. Cette corrélation dans le temps est évidemment à mettre en rapport avec le besoin d'énergie d'origine photosynthétique. L'observation cytologique des nodules confirme aussi l'idée d'une utilisation des glucides : les cellules infectées contiennent peu (ou pas du tout) d'amidon dans leurs plastes, alors que les cellules non infectées adjacentes renferment généralement de très gros amyloplastés.

Il existe une autre relation importante entre le plastidome et les bactéries fixatrices d'azote des nodules. La nitrogénase est inhibée par l'oxygène (Postgate, 1974). Il est donc évident que la fixation d'azote et une photosynthèse avec dégagement d'oxygène sont incompatibles dans un même lieu, à un même moment. Très logiquement — parce que les *Rhizobium* et les Actinomycètes se développent dans le sol — les nodules se forment sur des racines par établissement de la symbiose au sein de cellules qui contiennent des leucoplastes, c'est à dire des plastes ne dégageant évidemment pas d'oxygène. Chez les Cyanophycées où la photosynthèse dégage aussi de l'oxygène, la fixation d'azote a lieu dans les hétérocystes. Ceux-ci sont reliés aux cellules chlorophylliennes voisines, par des plasmodesmes. Chez les Bactéries photosynthétiques vertes ou pourpres, il existe aussi une fixation d'azote (Arnon et Yoch, 1974) mais dans ce cas le problème de l'inhibition de la nitrogénase par l'oxygène ne se pose pas, étant donné que la photosynthèse bactérienne ne dégage pas d'oxygène.

Ce rapide survol nous montre comment différents groupes ont résolu l'intégration de ces deux phénomènes fondamentaux que sont la photosynthèse et la fixation d'azote atmosphérique.

4° - Rôle médiateur du phloème.

A la différence des cellules animales qui sont indépendantes ou connectées par des "soudures" de membranes dans les jonctions cellulaires, les cellules végétales (des Métaphytes) sont reliées par des perforations de divers types (voir Figure 2) au moyen d'une continuité de la membrane cytoplasmique (plasmalemma). Chez les Plantes, ces communications intercellulaires sont les plasmos-

desmes pouvant s'élargir en pores de crible dans le cas du phloème. L'étude ultrastructurale montre que des plasmodesmes relient les cellules de parenchyme phloémien aux tubes criblés d'une part, et aux cellules du parenchyme chlorophyllien assimilateur d'autre part. La répartition de ces plasmodesmes est telle que toutes ces cellules sont interconnectées entre elles. L'ensemble que forme leur cytoplasme est un continuum désigné ici sous le nom de symplasma (plutôt que "symplaste", terme utilisé par Pate et Gunning, 1972).

Alors que les vaisseaux du bois ("cellules" sans noyau, sans cytoplasme, sans membrane cytoplasmique, ayant une paroi ajourée), sont en contact avec les espaces intercellulaires de l'apoplasme, le symplasma est centré sur le réseau que constituent les tubes criblés remplis par un colloïde protéique à l'état de sol.

On en déduit aisément que les Mycoplasmes du phloème, les bactéries-bactéroïdes formés par les *Rhizobium* dans les nodules, les plastes (en particulier les chloroplastes) sont situés dans le même symplasma. A cette évidence ultrastructurale il faut ajouter le rôle physiologique de distribution que joue le phloème (en particulier dans la répartition des produits de la photosynthèse). On voit ainsi que les Mycoplasmes sont "bien placés" pour prélever les substances nutritives dont ils ont besoin pour leur croissance.

Deux remarques cependant. Les Actinomycètes des nodules, les Champignons des mycorrhizes, les *Rhizobium* des cordons d'infection, ne sont pas situés dans le symplasma mais dans l'apoplasme du parenchyme cortical racinaire. Ceci ne les empêche pas de proliférer mais suggère des différences dans l'intégration symbiotique.

Les bactéries-bactéroïdes des nodules de Légumineuses sont dans le symplasma tout comme les chloroplastes le sont au niveau des feuilles. Ils créent dans le nodule une concentration forte de produits azotés résultant de la fixation, et du même coup un gradient de concentration. Or ces produits sont évacués, non par le phloème mais par le xylème (Pate et Gunning, 1972) dans une direction acropète, en particulier vers les graines qui ont un contenu protéique très élevé. Ceci nous renforce dans l'idée que l'existence d'un gradient de concentration de saccharose n'est pas le seul paramètre, jouant un rôle fondamental dans la translocation de celui-ci par le phloème. La position "haute" des chloroplastes a aussi sans doute un rôle.

III - APPARTENANCE A UN MEME NIVEAU D'ORGANISATION ET THEORIE SYMBIOTIQUE

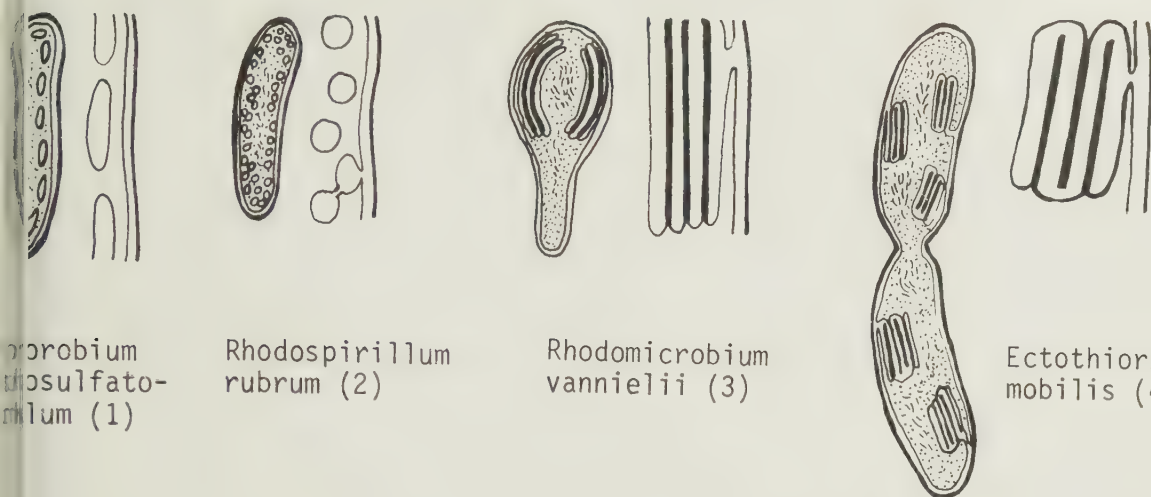
1° - La théorie symbiotique. Aperçu historique.

A la fin du 19ème siècle et au début du 20ème, Altmann (1890) et Mereschkowsky (1905, 1910) découvrirent en observant ce que nous appelons maintenant mitochondries (depuis Benda) et plastes (depuis Strasburger) des ressemblances étonnantes entre ces organites et les cellules libres que sont les Bactéries. Ils proposèrent de considérer ces organites comme vivant en symbiose dans les cellules des Animaux et des Plantes. Dans les années qui suivirent, cette conception fut beaucoup discutée. Sa valeur ne fut vraiment reconnue qu'à partir des années 1960, lorsque du DNA, des RNA, des ribosomes, des polymérases et d'autres enzymes liées au système de synthèse protéique, furent découverts dans les mitochondries et les plastes. Pour les mitochondries, on peut citer les travaux de Chèvremont et coll. (1959, 1961), Nass et Nass (1963), André et Marinozzi (1965). Pour les plastes la découverte du DNA est due à Ris et Plaut (1962) et l'étude de son rôle génétique a été faite en particulier par Eisenstadt et Brawerman (1964) ainsi que Goffeau et Brachet (1965). Kirk et Tilney-Bassett ont publié en 1967 un ouvrage très documenté sur ce problème dans le cas des plastes. Cette découverte d'un système génétique et de synthèse protéique analogue à celui qui venait d'être mis en évidence quelques années plus tôt chez les Bactéries, amena plusieurs auteurs comme Sagan (1967), Nass (1969), Raven (1970), Margulis (1970) et Stanier (1970) à moderniser la théorie symbiotique émise près d'un siècle auparavant par Altmann et Mereschkowsky. Cette symbiose dont "seraient nées les cellules eucaryotes par acquisition de mitochondries et de plastes" constitue maintenant un complément moderne et important à la théorie de l'évolution.

L'attrait de cette conception explique pourquoi de nombreux laboratoires essaient d'établir des symbioses artificielles. Des chloroplastes ont été cultivés en association avec des cellules animales cependant que plusieurs groupes travaillent à l'établissement d'une symbiose entre *Rhizobium* ou *Azotobacter* et des non-légumineuses comme le blé.

Les exemples naturels sont aussi assez extraordinaires. Ainsi comme nous l'avons illustré dans la planche 86, les cas des chloroplastes des Siphonales entrant en symbiose avec certains Mollusques Opisthobranches est très édifiant (Muscatine et Green, 1973). De même les cyanelles *Cyanophora paradoxa* Korschikoff

BACTERIES



Rhodospirillum
rubrum (1)

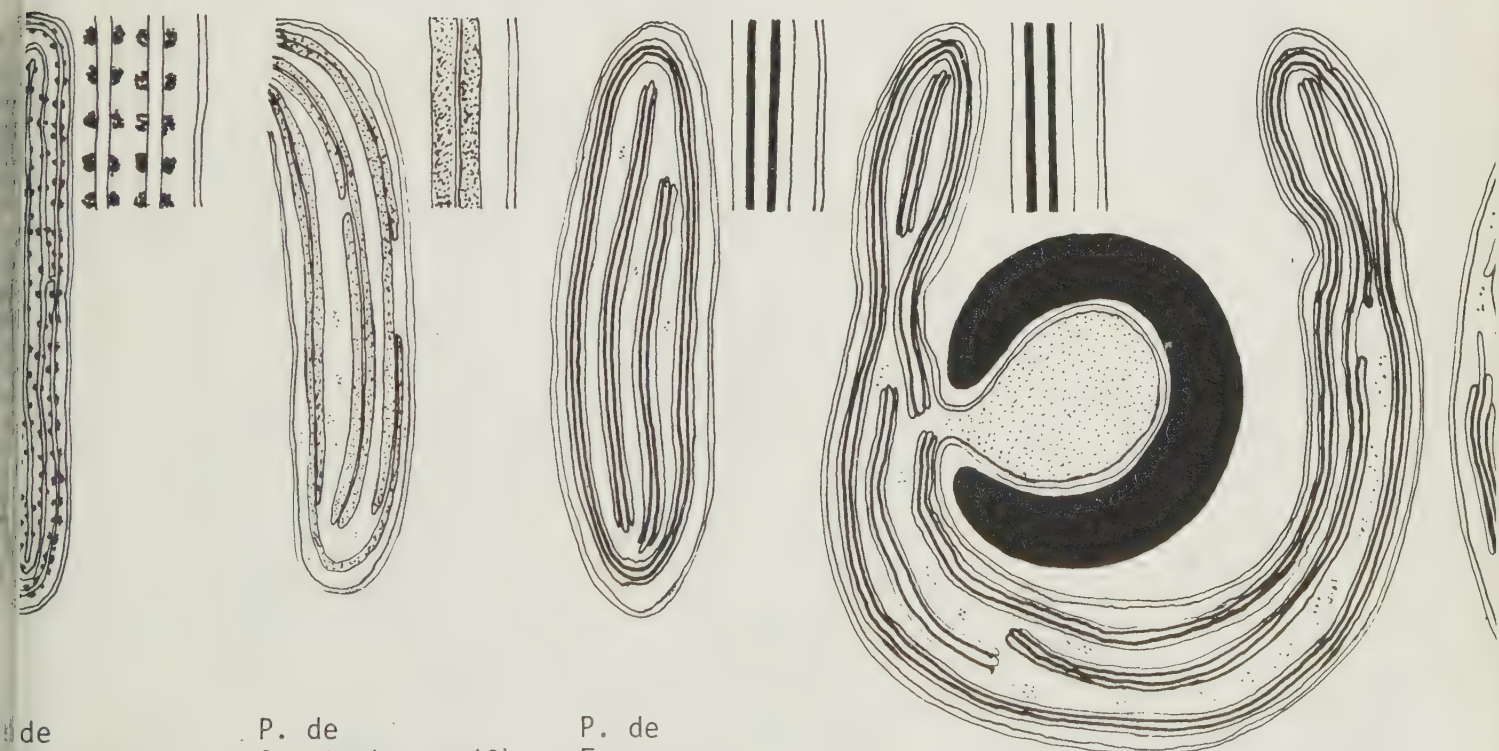
Rhodospirillum
rubrum (2)

Rhodospirillum
vannielii (3)

Ectothiorhodospira
mobilis (4)

EUCARYOT

ALGUES



Rhodospirillum
rubrum (1)

Rhodospirillum
rubrum (2)

Rhodospirillum
vannielii (3)

Ectothiorhodospira
mobilis (4)

Fig. 12 - Représentation schématique; à la même échelle, de quelques Cyanophycées), et de quelques plastes d'Algues et de Plantes. (1) Bazire et Kunisawa, 1963; (3) d'après Boatman et Douglas, 1961; (4) (6) d'après Dodge, 1973.

YOTES

CYANOPHYCEES



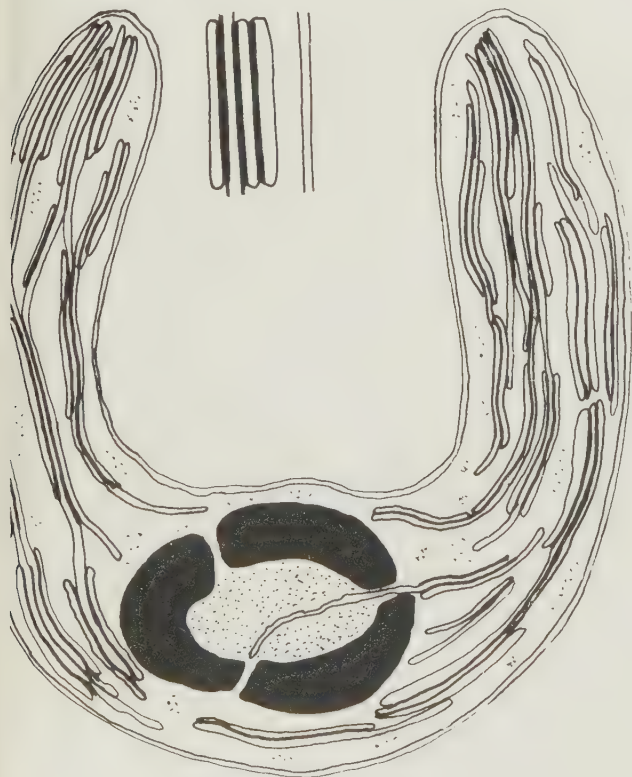
Anacystis
nidulans (5)



Nostoc
species

OTES

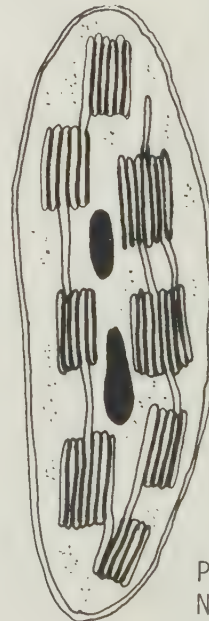
PLANTES



P. d'Enteromorpha
intestinalis



P. de
Characeae



P. de
Nicotiana
tabacum

ies Procaryotes à chlorophylle (Bactéries vertes et pourpres,
d'après Cohen-Bazire et coll., 1964; (2) d'après Cohen-
l) d'après Trüper, 1968; (5) d'après Lang et Whitton, 1973;

et *Glaucocystis nostochinearum* Itzigs étudiées par Bourdu et Lefort (1967), ou encore l'algue étudiée par Rosen et Siegesmund (1961), montrent clairement que des Protistes autres que les Algues classiquement décrites, possèdent des "structures plastidiales" à thylakoïdes isolés. Que ces structures soient bleues (chez *Cyanophora* et *Glaucocystis*) ou rouges dans le cas étudié par Rosen et Siegesmund, ceci tient seulement à la prédominance de la phycocyanine ou de la phycoérythrine. L'uniformité structurale des lamelles chlorophylliennes dans les deux cas ci-dessus, dans les plastes des *Rhodophyceae* et dans les *Cyanophyceae*, suggère que cet ensemble a pratiquement la valeur d'un taxon regroupant des organites cytoplasmiques et des cellules procaryotes libres.

2° - Remarques épistémologiques.

Du précédent aperçu historique, établi d'après les données de la littérature, il ressort que la théorie symbiotique est indissociable de l'idée que les Procaryotes, les mitochondries et les plastes font partie d'un même niveau d'organisation. Quelques précisions épistémologiques semblent nécessaires pour réfuter les critiques qui peuvent être faites à l'encontre de cette théorie.

Comme toute théorie évolutive, la théorie symbiotique amène souvent à formuler des propositions qui sont invérifiables parce que relatives au passé. La structure de la langue et la tradition culturelle rendent très suggestives de telles propositions formulées à l'imparfait de l'indicatif ou au moyen d'autres temps de narration ("à l'antécambrien vivaient...", "puis les mitochondries sont entrées..."). Mais cet avantage didactique masque un inconvénient majeur qui est l'impossibilité d'envisager des recherches tendant à valider ou invalider les propositions ainsi formulées. Il faut être conscient que l'exposé narratif n'est en quelque sorte qu'un schéma "pour faire comprendre" et rien de plus. Pour garder à la théorie sa valeur heuristique il est indispensable de la formuler au moyen de notions plus rigoureuses.

La plus utile est la notion de niveau d'organisation. C'est une notion très générale, valable dans tous les domaines de la connaissance scientifique (depuis les particules élémentaires jusqu'à la société humaine). Elle accompagne l'idée d'un emboîtement général des structures (les éléments constitutifs des différents niveaux sont emboîtés suivant un ordre qui dépend des dimensions relatives de ces éléments : les particules dans l'atome, l'atome dans la molécule,

la molécule dans l'organite, l'organite dans la cellule, la cellule dans l'individu, l'individu dans la population ou la société).

Cette notion de niveau d'organisation a plusieurs intérêts :

- elle est difficilement contestable par la communauté scientifique puisqu'elle n'est pas en contradiction avec les principes de la méthode expérimentale.
- elle possède indéniablement un intérêt didactique dans l'exposé des résultats.
- elle possède une valeur heuristique dans la recherche des propriétés communes aux éléments appartenant à un même niveau.
- elle permet de poser en termes scientifiques les relations complexes existant entre deux niveaux voisins d'organisation.

Elle a cependant un inconvénient important : elle bouscule des traditions.

3° - Applications concernant la théorie symbiotique et le niveau (Procaryotes-mitochondries-plastes)

Illustrons à l'aide de quelques exemples les considérations précédentes.

La notion de niveau d'organisation bouscule des traditions. En biologie, cette notion demande que la systématique linnéenne soit complétée par la reconnaissance du niveau d'organisation (Procaryotes-mitochondries-plastes) et par l'idée que les mitochondries et les plastes ne sont pas des organites du même type que le reticulum endoplasmique ou les centrioles mais représentent des organites semi-autonomes pouvant être considérés comme des "symbiotes" permanents. Le mot symbiote dans ce cas n'implique plus que l'entité considérée soit capable —au moins pendant un temps— de mener une vie libre (notion qui est implicite dans la systématique linnéenne). Les mitochondries et les plastes vivent et se multiplient dans le milieu cellulaire. Ils peuvent être séparés de ce milieu par fractionnement et leur DNA peut être isolé. Lorsque les résultats obtenus au moyen de cette technique seront devenus suffisamment nombreux, il sera intéressant de rechercher les homologues entre ces DNA et donc de classer les mitochondries et les plastes dont ils auront été extraits. En poussant cette idée jusqu'au bout, on serait ainsi amené à réaliser une taxonomie et même une nomenclature des mitochondries et des plastes. Il n'est pas certain qu'une nomenclature bino-

miale soit souhaitable mais le problème se posera. On sait que dans le système L.H.T., les virus sont déjà désignés de cette manière.

La notion de niveau d'organisation a un intérêt didactique. (mise en ordre de résultats déjà connus). Au cours des recherches biochimiques sur la fixation d'azote les chercheurs se sont aperçus que la nitrogénase qui est une métalloprotéine (Mo-Fe-protéine) ne se rencontre que chez les Procaryotes. Dans les autres cas où une fixation d'azote avait été supputée (mycorrhizes, nodules foliaires de Rubiacées, etc...) les recherches se sont révélées négatives (Becking, 1974).

Que l'on songe d'autre part à la chlorophylle, ou plus exactement aux chlorophylles, on constate que ces métalloprotéines (Mg-protéines) n'existent que chez les plastes, les Cyanophycées et certaines Bactéries, c'est à dire dans le niveau d'organisation qui nous occupe. Le même raisonnement peut être fait pour les cytochromes (Fe-protéines).

On voit donc que les mécanismes centraux de la photosynthèse, de la respiration et de la fixation d'azote sont l'apanage exclusif du niveau d'organisation (Procaryotes-mitochondries-plastes).

Par ailleurs on sait que le programme génétique de ces microorganismes et organites est constitué de DNA nu, non associé à des histones. Leur machinerie de synthèse protéique, en particulier, leurs ribosomes, diffèrent de l'équivalent hyaloplasmique des Eucaryotes.

Pour toutes ces données, l'utilisation de la notion de niveau d'organisation facilite l'exposé didactique en montrant les similitudes et les différences avec le reste de la matière vivante, c'est à dire le système nucléocytoplasmique des Eucaryotes.

La notion de niveau d'organisation (Procaryotes-mitochondries-plastes) a une valeur heuristique (théorie pour de nouvelles recherches).

Les Mycoplasmes phytopathogènes, les *Rhizobium* et les Actinomycètes des nodules sont des Procaryotes. Ils appartiennent donc au même niveau d'organisation que les plastes. Une propriété découverte dans l'un des groupes appartenant à ce niveau peut être recherchée dans les autres. Les résultats que nous avons obtenus de cette manière sont présentés sous forme d'un tableau récapitulatif (Tableau 2).

Une question importante concerne le site de la transcription chez tous les représentants du niveau d'organisation (Procaryotes-mitochondries-plastes). Leur génome comprend-t-il une partie inactive structurée en nucléoïde(s) et une autre partie active dispersée dans le stroma plastidial, la matrice mitochondriale ou le "cytoplasme" des cellules procaryotes? C'est un vaste sujet de recherches dont le succès dépend du choix judicieux d'un bon modèle expérimental. En ce qui concerne les plastes on peut penser qu'une grande partie de leur DNA est dispersée dans le stroma en dehors des nucléoïdes plastidiaux puisque ceux-ci ne représentent que de tout petits volumes. Comme les plastes contiennent quelques dizaines de molécules circulaires d'environ 40 microns de long (revue dans Gibbs et Poole, 1973), c'est à dire autant de DNA qu'une bactérie, la répartition de ce DNA est sans doute du même type que celle constatée dans les bactéroïdes de *Rhizobium* à croissance rapide.

L'étude ultrastructurale comparée montre que les Mycoplasmes phytopathogènes, les Bactéries des nodules racinaires fixateurs d'azote et les plastes —disposés dans cet ordre— représentent une série de complexité croissante (Tableau 2). Les Mycoplasmes, par leur remarquable simplicité, donnent le plan structural qui est commun à tous. Les plastes par leur extrême diversité permettent de recenser les paramètres intervenant dans la différenciation diachronique et synchronique d'un organe semi-autonome. Les Bactéries des nodules et particulièrement les *Rhizobium* sont un cas intermédiaire et fournissent un bon exemple pour la théorie symbiotique. Ceci nous permet de tenir pour prévisibles des progrès décisifs dans deux domaines de la biologie cellulaire :

- 1) - Etant donné que les Mycoplasmes sont les cellules les plus simples qui soient puisque procaryotes et sans paroi, l'analyse structurale et fonctionnelle de leur unique membrane devrait avoir valeur exemplaire dans la connaissance des biomembranes, montrant en particulier l'interaction d'un programme génétique avec les facteurs du milieu ainsi que le phénomène du vieillissement.
- 2) - Comme des microorganismes procaryotes (exemple *Rhizobium*) et des organites (les plastes) montrent une différenciation diachronique (au cours du temps : les étapes successives du développement) et que ces mêmes organites (les plastes) montrent en plus une différenciation synchronique (à un instant donné : la différenciation histo-cytologique) on peut penser que le problème fascinant de la différenciation des cellules animales et des cellules végétales progressera par l'étude de modèles plus simples judicieusement choisis dans le niveau d'organi-

		MYCOPLASMES PHYTOPATHOGENES	BACTERIES DES NODULES
CAUSES DE VARIABILITE INTERNE AUX GROUPES	COMMUNS	niveau procaryotique d'organisation : DNA nu condensé et coagulable, pas de membrane entre ce DNA et les ribosomes DNA condensé (et coagulé) ribosomes membrane plasmique	<u>RHIZOBIUM</u> DNA condensé (et coagulé) ribosomes membrane plasmique
	PARTICULIERS	paroi ↓ pléomorphisme inclusions 0 inclusion	paroi Gram- ↓ rigidité glycogène, P.H.B., corps granuleux, globules de polyphosphat (poly P), système vésiculaire
		différenciation diachronique; étapes du développement différences liées à la taxonomie de l'un ou l'autre des génomes associés ou des deux différenciation synchrone, histo-cytologie de l'espèce-hôte influence du milieu	importantes différences d'abord multiplication (cellules homogènes), puis sénescence et mort (cellules hétérogènes) (microparticules) importantes différences d'abord multiplication (bactéries en courts bâtonnets), puis souvent croissance, changement de forme, différenciation (bactérides), puis sénescence et mort importantes différences d'après le nucléoïde: (dispersé, sans polyP, R-rapides), (condensé avec polyP, R-lents), d'après la forme et l'évolution des bactéries (groupes d'inoculation) 0 différence détectée un seul tissu infecté, parenchyme cortical 0 différence détectée
		0 différence détectée sauf Spiroplasma 0 différence détectée un seul tissu infecté phloème 0 différence détectée	0 différence détectée sauf Spiroplasma 0 différence détectée un seul tissu infecté, parenchyme cortical 0 différence détectée

Tableau 2 - Récapitulatif de l'étude ultrastructurale comparative des Myco

S RACINAIRES FIXATEURS D'AZOTE	PLASTES
ACTINOMYCETES DNA condensé (et coagulé) ribosomes membrane plasmique	DNA condensé (et coagulé) ribosomes membrane plastidiale interne
paroi Gram+/Gram- (?) ↓ rigidité P.H.B. inclusion striée-ponctuée mésosome	membrane plastidiale externe ↓ plasticité grains d'amidon, globules de caroténoïdes, cristaux protéiques, pyrénolide, membranes du système lamellaire.
importantes différences d'abord prolifération (filaments et vésicules), puis sénescence et mort, ou achèvement d'un cycle (granules équivalant à spores) différences non significatives échantillon insuffisant 0 différence détectée un seul tissu infecté, parenchyme cortical 0 différence détectée	importantes différences d'abord multiplication (proplastés et chloro- plastés), puis croissance et différenciation (plastés adultes différenciés), puis sénescence et mort (chromoplastés et plastés régressés). importantes différences concernant le système des lamelles chlorophyl- liennes, le nombre, la forme, la taille des plastés chlorophylliens, leurs inclusions. Protéoplastés des <i>Abietaceae</i>. importantes différences en fonction des tissus (chloroplastés, amylo- plastés, leucoplastés, protéoplastés, plastés de cellules glandulaires... influence de la lumière ou de l'obscurité (étioplastés).

sation (Procaryotes-mitochondries-plastes). Les hétérocystes des Cyanophycées qui sont reliés par des plasmodesmes aux cellules chlorophylliennes adjacentes pourraient être l'un de ces modèles.

Il nous semble que la distinction entre différenciation diachronique et différenciation synchronique qui ressort des exemples choisis dans le présent travail peut contribuer à faire progresser la réflexion théorique et susciter des expériences sur le problème général de la différenciation cellulaire.

IV - CONCLUSIONS

- 1 . En dépit des différences évidentes qui les séparent, les Mycoplasmes phytopathogènes, les *Rhizobium* et les Actinomycètes des nodules racinaires, les plastes ont entre eux suffisamment de points communs pour justifier leur regroupement dans une étude comparative. Ceci est une condition nécessaire pour tirer parti à la fois de leurs différences et de leurs ressemblances.
- 2 . L'étude séparée de chacun des groupes a donné des résultats qui ont fait l'objet de publications (co-découverte et étude de Mycoplasmes phytopathogènes, première étude cytologique et cytochimique comparative des nodules de Légumineuses, co-découverte et interprétation des protéoplastes du phloème des Abiétacées). Les clichés de microscopie électronique correspondant ou non aux précédentes publications peuvent servir de documents pédagogiques pour des étudiants ou des enseignants en biologie.
- 3 . Des interactions de nature écophysiologiques ont été mises en évidence au sein d'une même plante entre des Mycoplasmes phytopathogènes et des plastes; entre des Mycoplasmes phytopathogènes et des *Rhizobium*; entre les Bactéries des nodules racinaires fixateurs d'azote et les plastes.

- 4 . En se fondant sur la littérature scientifique et sur les observations faites au cours du présent travail, on constate que tous les groupes étudiés contiennent du DNA nu condensé en nucléoïde(s) et des ribosomes à l'intérieur d'un même "sac" ou compartiment limité par au moins une membrane. Il n'existe aucune membrane entre le DNA condensé et les ribosomes. On en déduit que les groupes étudiés appartiennent au même niveau d'organisation incluant par ailleurs l'ensemble des Procaryotes et les mitochondries. Ceci amène alors à rechercher dans tous, les caractéristiques décelées chez certains d'entre eux. Cette méthode de recherche semble fructueuse pour l'étude physique et physiologique du génome, pour l'étude des différences liées à la taxonomie, pour l'étude des étapes chronologiques du développement et pour la compréhension des relations entre ces microorganismes ou ces organites et la plante qui les contient.
- 5 . L'utilisation de notions relatives aux cristaux liquides nous a permis d'interpréter les nucléoïdes à structure régulière de certains *Rhizobium* à croissance lente, l'évolution du contenu protéique des protéoplastes du phloème des Abiétacées et le colloïde protéique vacuolaire de cellules appartenant à une vesce (*Vicia hirsuta* L.). L'interprétation physique et physiologique des nucléoïdes des *Rhizobium* est vraisemblablement extensible à l'ensemble des (Procaryotes-mitochondries-plastes) à savoir présence de nucléoïde(s) condensé(s) génétiquement inactif(s) et d'une zone à ribosomes où se ferait la transcription.
- 6 . D'autres conceptions théoriques concernant la taxonomie globale, la taxonomie des Procaryotes et la physiologie du phloème ont été étayées dans ce travail.

BIBLIOGRAPHIE

- ABBAYES H. des, (1971). Flore et végétation du Massif Armoricain. *Presses Univ. Bretagne*, Saint Brieuc.
- AGARWAL A.K., MEHTA S.L. (1974). Characterization of DNA from *Rhizobium* cells and their bacteroids from root nodules. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 60, 257-265.
- AIKMAN D.P., ANDERSON W.P. (1971). A quantitative investigation of a peristaltic model for phloem translocation. *Ann. Bot. N.S.*, 35, 761-772.
- ALBOUY J. (1966). Le problème des germes fins du glaïeul. *Ann. Epiphyties*, 17, 81-91.
- ALBOUY J., COUSIN M.T., GRISON C. (1967). Etude comparée de trois maladies à virus : souche "californienne" de l'aster-yellow" du glaïeul, "phyllodie du trèfle" et "stolbur" de la tomate sur *Vinca rosea* L. *Ann. Epiphyties*, 18, 157-171.
- ALLEN T.C. (1972). Bacilliform particles within asters infected with a western strain of aster yellows. *Virology*, 47, 491-493.
- ALTMANN R. (1890). Die Elementarorganismen und ihre Beziehungen zu den Zellen. *Veit und Comp.*, Leipzig.
- ANDERSON D.R. (1969). Ultrastructural studies of Mycoplasmas and the L-phase of bacteria. In *The Mycoplasmatales and the L-Phase of Bacteria*. ed. Hayflick. North-Holland Publish. Co. Amsterdam, p. 365-402.
- ANDERSON A., ANDRE J. (1968). The extraction of some cell components with pronase and pepsine from thin sections of tissue embedded in a epon-araldite mixture. *J. Microscopie*, 7, 343-354.
- ANDERSON D.L., (1964). Electron microscopic observations on the structure of *Mycoplasma laidlawii*. *Proc. III Eur. Reg. Conf., Electron microscopy, Prague*, 539-540.
- ANDERSON D.R., BARILE M.F. (1965). Ultrastructure of *Mycoplasma hominis*. *J. Bacteriol.*, 90, 180-192.
- ANDRE J., MARINOZZI V. (1965). Présence dans les mitochondries de particules ressemblant aux ribosomes. *J. Microscopie*, 4, p. 615.
- APPLEBY C.A. (1969a). Electron transport systems of *Rhizobium japonicum*. I. Haemoprotein P-450, other coreactive pigments, cytochromes and oxidases in bacteroids from N₂-fixing root nodules. *Biochim. Biophys. Acta*, 172, 71-87.
- APPLEBY C.A. (1969b). Electron transport systems of *Rhizobium japonicum*. II. *Rhizobium* haemoglobin, cytochromes and oxidases in free-living (cultured) cells. *Biochim. Biophys. Acta*, 172, 88-105.

- APPLEBY C.A. (1974). Development of root-nodule symbioses : Leghemoglobin. In *The Biology of Nitrogen Fixation*. Ed. Quispel, North-Holland Publ. Co. Amsterdam, p. 521-554.
- ARNON D.I., YOCH D.C. (1974). Photosynthetic bacteria. In *The Biology of Nitrogen Fixation*. Ed. Quispel, North-Holland Publ. Co. Amsterdam, p. 168-201.
- AUFEUVRE M.A. (1973). Cytologie et évolution de *Rhizobium cowpea* dans le nodule d'Arachide (*Arachis hypogea*). *C. R. Acad. Sci.*, 277, 921-924.
- BABILLOT C. (1970). Etude de l'incorporation d'uridine tritiée dans le noyau d'*Amphidinium carteri* (Dinoflagellé). *C. R. Acad. Sci.*, 271, 838-831.
- BAILEY R.W., GREENWOOD R.M., CRAIG A. (1971). Extracellular polysaccharides of *Rhizobium* strains associated with *Lotus* species. *J. gen. Microbiol.*, 65, 315-324.
- BALASSA G. (1963). Le métabolisme des acides ribonucléiques au cours du cycle sporal de *Bacillus subtilis*. In *Colloques Internationaux du CNRS. Mécanismes de régulation des activités cellulaires chez les microorganismes*. Marseille, p. 565-582.
- BAUMEISTER W., KAUSCH W. (1974). Ultrastructural aspects of the symbiotic association in *Hippophaë* root nodules. *Naturwiss.*, 61, p. 219.
- BECKING J.H., WILLEMINA E.D.B., HOUWINK A.L. (1964). Electron microscopy of the endophyte of *Alnus glutinosa*. *Antonie van Leeuwenhoek*, 30, 343-376.
- BECKING J.H. (1974). Putative nitrogen fixation in other symbioses. In *The Biology of Nitrogen Fixation*. Ed. Quispel, North-Holland Publ. Co. Amsterdam, p. 583-613.
- BEHNKE H.D., TURNER B.L. (1971). On specific sieve-tube plastids in Caryophyllales. *Taxon*, 20, 731-737.
- BEHNKE H.D. (1972). Sieve-tube plastids in relation to angiosperm systematics. An attempt towards a classification by ultrastructural analysis. *The Botanical Review*, 38, 155-197.
- BEHNKE H.D. (1974). Sieve-element plastids of *Gymnospermeae* : their ultrastructure in relation to systematics. *Plant Syst. Evol.*, 123, 1-12.
- BEHNKE H.D. (1974). P-type sieve-element plastids : a correlative ultrastructural and ultrahistochemical study on the diversity and uniformity of a new reliable character in seed plant systematics. *Protoplasma*, 83, 91-101.
- BEIJERINCK M.W. (1888). Die Bakterien der Papilionaceen-knöllchen. *Bot. Zeit.*, 46, 726-735.
- BERGERSEN F.J. (1955). The cytology of bacteroids from root nodules of subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.). *J. gen. Microbiol.*, 13, 411-419.

- BERGERSEN F.J., BRIGGS M.J. (1958). Studies on the bacterial component of soybean root nodules : cytology and organization in the host tissue. *J. gen. Microbiol.*, 19, 482-490.
- BERGERSEN F.J. (1968). The symbiotic state in legume root nodules. Studies with the soybean system. In "9th Int. Congr. Soil. Sci. Adelaide, Australie, Trans. II". Sydney, Angus & Robertson Ltd. p. 49-63.
- BERGERSEN F.J. (1971). Biochemistry of symbiotic nitrogen fixation in legumes. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 22, 121-140.
- BERGERSEN F.J., GOODCHILD D.J. (1973). Cellular location and concentration of leghemoglobin in soybean root nodule. *Austr. J. Biol. Sci.*, 26, 741-756.
- BERGERSEN F.J. (1974). Development of root-nodule symbioses : formation and function of bacteroids. In *The Biology of Nitrogen Fixation*. Ed. Quispel, North-Holland Publ. Co. Amsterdam, p. 474-498.
- BESSIS M., BRETON-GORIUS J. (1960). Aspect de la molécule de ferritine et d'apoferritine au microscope électronique. *C. R. Acad. Sci.*, 250, 1360-1362.
- BIBBY B.T., DODGE J.D. (1974). The fine structure of the chloroplast nucleoid in the *Scrippsiella sweeneyae* (Dinophyceae). *J. Ultrastruct. Res.*, 48, 153-161.
- BIDDULPH O. (1959). Translocation of inorganic solutes. In *Plant Physiology. A treatise*. F.C. Steward. ed., Acad. Press, New-York et Londres, II, 553-603.
- BOLOUKHERE M. (1972). Différenciation spatiale et temporelle des chloroplastes d'*Acetabularia mediterranea*. *J. Micr.*, 13, 401-416.
- BOND G. (1974). Root-nodule symbioses with actinomycete-like organisms. In *The Biology of Nitrogen Fixation*. Ed. Quispel, North-Holland Publ. Co. Amsterdam, p. 342-378.
- BONNEAU M. (1971). Causes de la déformation des jeunes Douglas dans le Limousin. *Ann. Sci. Forest.*, 28, 341-353.
- BONNEMAIN J.L. (1970). Transport de l'A.I.A. marqué et de ses dérivés à partir des jeunes fruits. *C. R. Acad. Sci.*, 270, 1326-1329.
- BONNEMAIN J.L. (1972). La plante supérieure, siège d'une circulation complexe. *Physiol. Vég.*, 10, 697-729.
- BORDET J. (1910). La morphologie du microbe de la péripleurmonie des bovidés. *Ann. Inst. Pasteur*, 24, 161-167.
- BORGES M.L.V., DAVID-FERREIRA J.F. (1968). Presence of Mycoplasma in *Lycopersicon esculentum* Mill. with "Mal Azul". *Bol. Soc. Broteriana*, 42, 321-328.
- BORGES M.L.V., DAVID-FERREIRA J.F. (1970). Observations on the phloem of tomato plants infected with *Mycoplasma* sp. 7e Cong. Internat. Micros. Electr. Grenoble, 30 août-5 sept., p. 351-352.

- BORREL, DUJARDIN-BAUMETZ, JEANTET, JOUAN (1910). Le microbe de la péripneumonie. *Ann. Inst. Pasteur*, 24, 168-179.
- BOUCK G.B. (1963). Stratification and subsequent behaviour of plant cell organelles. *J. Cell Biol.*, 18, 441-457.
- BOULIGAND Y. (1965). Sur une disposition fibrillaire torsadée commune à plusieurs structures biologiques. *C. R. Acad. Sci.*, 261, 4864-4867.
- BOULIGAND Y. (1966). Remarques préliminaires sur l'arrangement des filaments d'ADN chez certains Protistes. *J. Microscopie*, 5, 34a-35a.
- BOULIGAND Y., PUISEUX-DAO S. (1966). Sur l'arrangement des filaments d'ADN dans les chromosomes de Péridiniens et de certaines Bactéries. *Sixth Internat. Congr. Electron. Micros.*, II, 351-352, Tokyo-Maruzen.
- BOULIGAND Y., PUISEUX-DAO S., SOYER M.O. (1968). Liaisons morphologiquement définies entre chromosomes et membrane nucléaire chez certains Péridiniens. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 266, 1287-1289.
- BOULIGAND Y. (1972). Twisted fibrous arrangements in biological materials and cholesteric mesophases. *Tissue & Cell*, 4, 189-217.
- BOULIGAND Y. (1975). Defects and textures in cholesteric analogues given by some biological systems. *J. Physique*, 36, Colloque C1-337.
- BOULLARD B. (1967). Vie intense et cachée du sol. Essai de pédobiologie végétale. *Flammarion, Paris*.
- BOURDU R., LEFORT M. (1967). Structure fine observée en cryodécapage, des lamelles photosynthétiques des Cyanophycées endosymbiotiques : *Glaucozystis nostochinearum* Itzigs et *Cyanophora paradoxa* Korschikoff. *C. R. Acad. Sci.*, 265, 37-40.
- BOVE J.M. (1975). Les mycoplasmes. *La Recherche*, 6, 210-220.
- BOWYER J.W., ATHERTON J.G., TEAKLE D.S., AHERN G.A. (1969). Mycoplasma-like bodies in plants affected by legume little leaf, Tomato big bud and lucerne witches' broom diseases. *Aust. J. Biol. Sci.*, 22, 271-274.
- BRANGEON J. (1973). Compared ontogeny of the two types of chloroplasts of *Zea mays*. *J. Microscopie*, 16, 233-242.
- BREDT W. (1968). Motility and multiplication of *Mycoplasma pneumoniae*. A phase contrast study. *Path. Microbiol.*, 32, 321-326.
- BREDT W. (1974). Structure and motility. *Colloque International sur les Mycoplasmes*. INSERM, 11-17 sept., Bordeaux, p. 43-52.
- BRIDRE J., DONATIEN A. (1925). Le microbe de l'agalaxie contagieuse du mouton et de la chèvre. *Ann. Inst. Pasteur*, 39, 925-951.

- BRULFERT J. (1965). Etude expérimentale du développement végétatif et floral chez *Anagallis* L. ssp *phoenicea* Scop. Formation de fleurs prolifères chez cette même espèce. *Rev. gen. Bot.*, 72, 641-694.
- BUKOVAC M.J., WITTEWER S.H. (1957). Absorption and motility of foliar applied nutrients. *Plant. Physiol.*, 32, 428-435.
- BURRILL T.J., HANSEN R. (1917). Is symbiosis possible between legume bacteria and non-legume plants? *Ill. Agr. Expt. Sta. Bull.*, 202, 115-181.
- BUVAT R. (1960). Observations sur les infrastructures du cytoplasme au cours de la différenciation des cellules criblées de *Cucurbita pepo* L. *C. R. Acad. Sci.*, 250, 1528-1530.
- BUVAT R. (1963). Les infrastructures et la différenciation des cellules criblées de *Cucurbita pepo* L. *Port. Acta Biol. Ser.*, 7, 249-299.
- BUVAT R. (1969). La cellule végétale. *Univers des Connaissances*, Hachette.
- BUVAT R. (1974). Structures cytoplasmiques apparemment induites par un virus dans les faisceaux conducteurs d'entre-nœuds de *Cucurbita pepo* L. (*Cucurbitaceae*). *C. R. Acad. Sci. Paris*, 278, 3195-3198.
- CAMPBELL R. (1972). Electron microscopy of the development of needles of *Pinus nigra* var. *maritima*. *Ann. Bot.*, 36, 711-720.
- CANNY M.J. (1973). Phloem translocation. *Cambridge Univ. Press*.
- CARLE P. (1965). Fluoroscopie des symptômes histologiques de la flavescence dorée de la Vigne. Application à la détection rapide des lésions précoces sur cépage sensible (Baco 22A). *Ann. Epiphyties*, 16, 73-85.
- CARO L.G., FORRO F. (1961). Localization of macromolecules in *Escherichia coli*. II. RNA and its site of synthesis. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 9, p. 555.
- CARO L.G. (1969). Chromosomes of bacteria. In *Handbook of Molecular Cytology*. Lima de Faria, North-Holland Publ. Co., p. 126-145.
- CHATTON E. (1938). Titres et travaux scientifiques. 2 vol. Sète.
- CHEN S.L. (1951). Simultaneous movement of P^{32} and C^{14} in opposite directions in phloem tissue. *Amer. J. Bot.*, 38, 203-210.
- CHEVAILLIER P. (1969). Le noyau du spermatozoïde et son évolution au cours de la spermiogénèse. In *Comparative Spermatology. Ist Internat. Symp. Roma-Siena*, 1-5 jul. 1969, Ed. B. Bacetti.
- CHEVREMONT M., CHEVREMONT-COMNAIRE S., BAECKELAND E. (1959). Action de désoribonucléases neutre et acide sur des cellules somatiques vivantes *in vitro*. *Arch. Biol. (Liège)*, 70, p. 811.

- CHEVREMONT M., BASSLEER R., BAECKELAND E. (1961). Nouvelles recherches sur les acides désoribonucléiques dans des cultures de fibroblastes refroidies puis réchauffées. Etudes cytophotométrique et histoautoradiographique. Localisation cytoplasmique d'ADN. *Arch. Biol. (Liège)*, 72, p. 501.
- CHIZHIK G.Y. (1959). The structure of the root nodule bacteria. *Mikrobiologiya*, 28, p. 28.
- CHOUARD P. (1950). Réversibilité de l'état reproductif à l'état végétatif sous l'effet du photopériodisme. *C. R. Acad. Sci.*, 231, 1245-1247.
- CHOUARD P. (1951). Réversion végétative de la fleur et néoténie provoquées expérimentalement, comme moyens physiologiques d'investigation sur la phylogénie et l'ontogénie des plantes à fleurs. *C. R. Acad. Sci.*, 233, 86-88.
- CHOUARD P. (1957). Réversibilité de l'état reproductif à l'état végétatif par le photopériodisme, et production expérimentale de fleurs prolifères chez *Anagallis arvensis*. *C. R. Acad. Sci.*, 245, 2351-2353.
- CIAMPOR F., SCHRAMEK S., BREZINA R. (1972). Electron microscopy of ruthenium red-stained phase I and II *Coxiella burnetii*. *Acta virol.*, 16, 503-506.
- COHEN-BAZIRE G., KUNISAWA R. (1963). The fine structure of *Rhodospirillum rubrum*. *J. Cell Biol.*, 16, 401-420.
- COHEN-BAZIRE G., PFENNIG N., KUNISAWA R. (1964). The fine structure of green bacteria. *J. Cell Biol.*, 22, 207-225.
- COLE R.M., TULLY J.G., POPKIN T.J., BOVE J.M. (1973). Morphology, ultrastructure and bacteriophage infection of the helical mycoplasma-like organism (*Spiroplasma citri* gen. nov., sp. nov.) cultured from "stubborn" disease of *Citrus*. *J. Bacteriol.*, 115, 367-386.
- Control of organelle development. *Symposia of the Soc. Exp. Biol., Symposium 24 (1969)*, Cambridge Univ. Press, 1970.
- COOIL B.J. (1941). Significance of phloem exudate of *Cucurbita pepo* with reference to translocation of organic materials. *Pl. Physiol., Lancaster*, 16, 61-84.
- COPELAND H.F. (1938). The Kingdom of organisms. *Quat. Rev. Biol.*, 13, 383-420.
- COUSIN M.T., MOREAU J.P., VAN LOON L.C. (1965). Les maladies à virus du trèfle transmises par cicadelles en France. *Ann. Epiphyties*, 16, 137-149.
- COUSIN M.T., GRISON C. (1966). Quelques observations et essais concernant le stolbur de la tomate. *Ann. Epiphyties*, 17, 99-113.
- COUSIN M.T. (1967). Histological study by means of fluorescence microscopy, of plants infected with "yellow-type" viruses. *Plant Virol., 6th Conf. Czechosl. Plant Virol. Olomouc*, p. 145-150.

- COUSIN M.T., GOURRET J.P., LACOTE J.P., LECLANT F. (1969). Découverte de particules de type "mycoplasme" dans le liber de *Convolvulus arvensis* récoltés dans un champ de lavandins atteints de flétrissements. *Ann. Phytopathol. France*, 1, 297-300.
- COUSIN M.T., MAILLET P.L., GOURRET J.P. (1969). La virescence du cotonnier (*Gossypium hirsutum* L.), nouvelle maladie à mycoplasmes. *C. R. Acad. Sci.*, 268, 2382-2384.
- COUSIN M.T., MOREAU J.P., FAIVRE-AMIOT A., STARON T. (1970). Sur la présence de particules de type mycoplasme chez les fraisiers atteints de la maladie des "pétales verts", (comparaison avec la phyllodie du trèfle), polymorphisme du microorganisme. *Ann. Phytopathol.*, 2, 535-545.
- COUSIN M.T., DARPOUX H., FAIVRE-AMIOT H., STARON T. (1970). Sur la présence de microorganismes de type mycoplasme dans le parenchyme cortical de fêverolles présentant des symptômes de virescence. *C. R. Acad. Sci.*, 271, 1182-1184.
- COUSIN M.T., MOREAU J.P., KARTHA K.K., STARON T., FAIVRE-AMIOT A. (1971). Polymorphisme des microorganismes de type mycoplasme rencontrés dans les tubes criblés de lavandins "Abrial" atteints de "dépérissement jaune". *C. R. Acad. Sci.*, 272, 2082-2085.
- COUSIN M.T., SCHWEISGUTH B., FAIVRE-AMIOT A., KARTHA K.K., STARON T., MOREAU J.P. (1971). Contribution à l'étude du cycle des mycoplasmes chez les végétaux à l'aide d'observations effectuées sur oignon atteint d'"Aster Yellow". *C. R. Acad. Sci.*, 272, 830-833.
- CRAIG A.J., WILLIAMSON K.I., (1972). Three inclusions of rhizobial bacteroids and their cytochemical character. *Arch. Mikrobiol.*, 87, 165-171.
- CRAIG A.S., GREENWOOD R.M., WILLIAMSON K.I. (1973). Ultrastructural inclusions of rhizobial bacteroids of *Lotus* nodules and their taxonomic significance. *Arch. Mikrobiol.*, 89, 23-32.
- CRONSHAW J., ESAU K. (1967). Tubular and fibrillar components of mature and differentiating sieve elements. *J. Cell Biol.*, 34, 801-816.
- CRONSHAW J., ESAU K. (1968). P -protein in the phloem of *Cucurbita*. II. The P protein of the mature sieve element. *J. Cell Biol.*, 38, 292-303.
- DANEO-MOORE L., HIGGINS M.L. (1972). Morphokinetic reaction of *Streptococcus faecalis* (ATCC 9790) cells to the specific inhibition of macromolecular synthesis : nucleoid condensation on the inhibition of protein synthesis. *J. Bacteriol.*, 109, 1210-1220.
- DANGEARD (1926). Recherches sur les tubercules radicaux des Légumineuses. *Le Botaniste*, 16, 1-269.
- DANIELS M., MEDDINS B. (1974). The pathogenicity of *Spiroplasma citri*. *Colloque International sur les Mycoplasmes*, INSERM, 11-17 sept., Bordeaux, p. 195-200.

- DART P.J., MERCER F.V. (1963a). Development of the bacteroid in the root nodule of barrel medic (*Medicago tribuloides* Desr.) and subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.). *Arch. Mikrobiol.*, 46, p. 382.
- DART P.J., MERCER F.V. (1963b). The intracytoplasmic membrane system of the bacteroids of subterranean clover nodules (*Trifolium subterraneum* L.). *Arch. Mikrobiol.*, 47, 1-18.
- DART P.J., MERCER F.V. (1966). Fine structure of bacteroids in root nodules of *Vigna sinensis*, *Acacia longifolia*, *Viminaria juncea* and *Lupinus angustifolius*. *J. Bacteriol.*, 91, 1314-1319.
- DART P.J. (1968). Localisation of peroxydase activity in legume root nodules. *IVth European Regional Conference on E.M., Rome*.
- DAVEY M.R., COCKING E.C., BUSH E. (1973). Isolation of legume root nodule protoplasts. *Nature*, 244, 460-461.
- DAVIS R.E., WHITCOMB R.F., CHEN T.A., GRANADOS R.R. (1972). Current status of the aetiology of corn stunt disease. *Pathogenic Mycoplasmas*, Ciba Foundation Symposium, London, p. 205-227.
- DAVIS R.E., WORLEY J.F. (1972). Helical filaments produced by a mycoplasma-like organism associated with corn stunt disease. *Science*, 176, 521-523.
- DELAINE E., RIOU E. (1969). Ultrastructure des altérations du DNA du kinétoplaste de *Trypanosoma cruzi* traité par le bromure d'éthidium. *C. R. Acad. Sci.*, 268, 1327-1330.
- DE LEY J., RASSEL A.J. (1965). DNA base composition, flagellation and taxonomy of the genus *Rhizobium*. *J. gen. Microbiol.*, 41, 85-91.
- DILWORTH M.J., KIDBY D.K. (1968). Localization of iron and leghaemoglobin in the legume root nodule by electron microscope autoradiography. *Exp. Cell Res.*, 49, 148-159.
- DIXON R.O.D. (1964). The structure of infection threads bacteria and bacteroids in pea and clover root nodules. *Arch. Mikrobiol.*, 48, 166-178.
- DIXON R.O.D. (1967). The origin of the membrane envelope surrounding the bacteria and bacteroids and the presence of glycogen in clover root nodules. *Arch. Mikrobiol.*, 56, 156-166.
- DODGE J.D. (1973). The fine structure of algal cells. *Acad. Press, London, New-York*.
- DOI Y., TERANAKA M., YORA K., ASUYAMA H. (1967). Mycoplasma or PLT group-like microorganisms found in the phloem elements of plants infected with mulberry dwarf potato witches'broom, aster yellows or Paulownia witches'broom. *Ann. Phytopath. Soc. Japan*, 33, 259-266.
- DOMERMUTH C.H., NIELSEN M.A., FREUNDT E.A., BIRCH-ANDERSEN A. (1964). Ultrastructure of Mycoplasma species. *J. Bacteriol.*, 88, 727-744.

- DUPUY P. (1963). Contribution à l'étude de quelques problèmes de morphologie et de tératologie expérimentales chez les Angiospermes. *Thèse Sc. Nat. Poitiers*.
- DWORSKY P., SCHAECHTER M. (1973). Effect of rifampin on the structure and membrane attachment of the nucleoid of *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.*, 116, 1364-1374.
- EDWARD D. (1974). Taxonomy of the class mollicutes. *Colloque International sur les Mycoplasmes INSERM*, 11-17 sept., Bordeaux, p. 13-18.
- EDWARD D.G., FREUNDT E.A. (1967). *Int. J. system. Bact.*, 17, 267-268.
- EDWARDSON J.R., PURCIFULL D.E., CHRISTIE R.G. (1968). Structure of cytoplasmic inclusions in plants infected with rod-shaped viruses. *Virology*, 34, 250-263.
- EISENSTADT J.M., BRAWERMAN G. (1964). The protein-synthetising systems from the cytoplasm and the chloroplasts of *Euglena gracilis*. *J. Mol. Biol.*, 10, 392-402.
- ELLFOLK N. (1972). La leghémoglobine, une hémoglobine végétale. *Endeavour*, 31, 139-142.
- ESAU K. (1965). Fixation images of sieve element plastids in Beta. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 54, 429-437.
- ESAU K. (1969). The phloem. In *Encyclop. Plant Anat.*, V2, Borntraeger, Berlin.
- ESAU K. (1971). The sieve element and its immediate environment : thoughts on research of the past fifty years. *J. Indian bot. Soc.*, 50A, 115-129.
- ESCHRICH W. (1967). Bidirektionelle Translokation in Siebröhren. *Planta*, 73, 37-49.
- FARRANT J.L. (1954). An electron microscopic study of ferritin. *Biochim. Biophys. Acta*, 13, 569-576.
- FELDMANN J. (1963). Les Algues. In *Précis de Botanique*. Ed. Masson et Cie. p. 83-249.
- FENSOM D.S., CLATTENBURG R., CHUNG T., LEE D.R., ARNOLD D.C. (1968). Moving particles in intact sieve tubes of *Heracleum mantegazzianum*. *Nature*, 219, 531-532.
- FENSOM D.S., DAVIDSON H.R. (1970). Micro-injection of ^{14}C -sucrose into single living sieve tubes of *Heracleum*. *Nature*, 227, 857-858.
- FERRE Y. de (1952). Les formes de jeunesse des Abiétacées. Ontogénie et phylogénie. *Thèse. Toulouse*, p. 1-284.
- FITZ-JAMES P.C. (1960). Participation of the cytoplasmic membrane in the growth and spore formation of bacilli. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 8, 507-528.

- FOOKE-ACHTERRATH , LICKFELD K.G., REUSCH V.M., AEBI U., TSCHOPE U., MENGE B. (1974). Close-to-life preservation of *Staphylococcus aureus* mesosomes for transmission electron microscopy. *J. Ultrastruct. Res.*, 49, 270-285.
- FRANKLIN R.M., GRANBOULAN N. (1965). High resolution autoradiography of bacteria labelled with tritiated uridine. *J. Mol. Biol.*, 14, 623-625.
- FRED E.B., BALDWIN I.L., McCOY E. (1932). Root nodule bacteria and leguminous plants. *Univ. Wisconsin Studies Sci.*, 5, p. 343.
- FREY-WYSSLING A., RUCH F., BERGER X. (1956). Monotrope plastidenmetamorphose. *Protoplasma*, 45, 97-114.
- FOURNIER P. (1961). Les quatre flores de la France. Ed. P. Lechevalier, Paris.
- FULD-ALLAH A.E.S.A., CALAVAN E.C., IGWEGBE E.C.K. (1972). Culture of mycoplasma-like organism associated with stubborn disease of *Citrus*. *Phytopathology*, 62, 729-731.
- FUHS G.W. (1969). The nuclear structures of procaryotic organisms (Bacteria and Cyanophyceae). *Springer-Verlag, Wien, New-York*.
- FUHS G.W. (1973). Cytochemical examination of blue-green algae. In *The Biology of Blue Green Algae*. Ed. Carr N.G. et Whitton B.A., Blackwell.
- GAYRAL P. (1966). Les algues des côtes françaises (Manche-Atlantique). Ed. Doin, Paris.
- GENERMONT J. (1971). Le rôle génétique des mitochondries et des chloroplastes chez les êtres unicellulaires. *Ann. Biol.*, 10, 53-76.
- GIANNOTTI J. (1974). Culture de mollicutes à partir de plantes atteintes de jaunisse et d'insectes vecteurs. In *Coll. Internat. Mycoplasmes, INSERM*, 11-17 sept., Bordeaux, 99-106.
- GIANNOTTI J., DEVAUCHELLE G. (1970). Dégénérescence des cellules chlorophylliennes dans les zones chlorotiques des feuilles de *Trifolium repens* L. atteint de phyllodie. *Mikroskopie*, 26, 10-19.
- GIANNOTTI J., DEVAUCHELLE G., VAGO C. (1968). Microorganismes de type mycoplasme chez une cicadelle et une plante infectées par la phyllodie. *C. R. Acad. Sci.*, 266, 2168-2171.
- GIANNOTTI J., MORVAN G., VAGO C. (1968). Microorganismes de type mycoplasme dans les cellules libériennes de *Malus sylvestris* L. atteint de la maladie des proliférations. *C. R. Acad. Sci.*, 267, 76-77.
- GIANNOTTI J., MARCHOUX G., VAGO C., DUTHOIT J.L. (1968). Microorganismes de type mycoplasme dans les cellules libériennes de *Solanum lycopersicum* L. atteintes de stolbur. *C. R. Acad. Sci.*, 267, 454-456.

- GIANNOTTI J., CAUDWELL A., VAGO C., DUTHOIT J.L. (1969). Isolement et purification de microorganismes de type mycoplasme à partir de vignes atteintes de flavescence dorée. *C. R. Acad. Sci., Paris*, 268, 845-847.
- GIANNOTTI J., DEVAUCHELLE G., MARCHOUX G., VAGO C. (1969). Recherches sur le pléomorphisme des microorganismes de type mycoplasme chez les plantes atteintes de jaunisses. *C. R. Acad. Sci.*, 268, 1354-1356.
- GIANNOTTI J., VAGO C., MARCHOUX G., DEVAUCHELLE G., DUTHOIT J.L. (1970). Infection de plante par un type inhabituel de microorganisme intracellulaire. *C. R. Acad. Sci.*, 271, 2118-2119.
- GIANNOTTI J., DEVAUCHELLE G., VAGO C. (1970). Recherches sur le cycle de développement des mycoplasmes de plantes transmis par des vecteurs. 7ème Cong. Internat. Micros. Electr., Grenoble, 30 août-5 sept., p. 353-354.
- GIANNOTTI J., DEVAUCHELLE G., VAGO C., MARCHOUX M. (1973). Rod-shaped virus-like associated with degenerating mycoplasma in plant and insect-vector. *Ann. Phytopathol.*, 5, 461-465.
- GIANNOTTI J., MARCHOUX G., DEVAUCHELLE G., LOUIS C. (1974). Double infection cellulaire à mycoplasmes et à germes rickettsioides chez la plante parasite *Cuscuta subinclusa* L. *C. R. Acad. Sci.*, 278, 751-753.
- GIBBS A.J., HARRISON B.D., WATSON D.H., WILDY P. (1966). What's in a virus name. *Nature*, 209, 450-454.
- GIBBS A. (1969). Plant virus classification. *Adv. Virus Res.*, USA, 14, 263-328.
- GIBBS S.P. (1960). The fine structure of *Euglena gracilis* with special reference to the chloroplasts and pyrenoids. *J. Ultrastruct. Res.*, 4, 127-148.
- GIBBS S.P. (1962a). The ultrastructure of the pyrenoids of algae, exclusive of the green algae. *J. Ultrastruct. Res.*, 7, 247-261.
- GIBBS S.P. (1962b). The ultrastructure of the chloroplasts of algae. *J. Ultrastruct. Res.*, 7, 418-435.
- GIBBS S.P. (1962c). Nuclear envelope-chloroplast relationships in algae. *J. Cell Biol.*, 14, 433-444.
- GIBBS S.P. (1962d). Chloroplast development in *Ochromonas danica*. *J. Cell Biol.*, 15, 343-361.
- GIBBS S.P., POOLE R.J. (1973). Autoradiographic evidence for many segregating DNA molecules in the chloroplast of *Ochromonas danica*. *J. Cell Biol.*, 59, 318-328.
- GIESBRECHT P. (1961). Über das "Supercoiling" System der Chromosomen von Bakterien und Flagellaten und Seine Beziehungen zu Nucleolus und Kerngrundsubstanz. *Zbl. Bakt.*, 183, 1-44.

- GIESBRECHT P. (1962). On "permanent prophase chromosomes" in non dividing bacteria. *Fifth Internat. Congr. Electr. Microsc., Philadelphia. Acad. Press New-York.*
- GIESBRECHT P. (1965a). Über die Tertiarstruktur der DNS in den Chromosomen lebender Zellen. *Z. Naturforschg., 20*, 927-928.
- GIESBRECHT P. (1965b). Über das Ordnungsprinzip in den Chromosomen von Dinoflagellaten und Bakterien. *Zbl. Bakt., 196*, 516-519.
- GIESBRECHT P. (1966). Some variations in the structure of the DNA during the chromosomal cycle of "living" dinoflagellates and bacteria. *Sixth Internat. Congr. Electr. Microsc., Kyoto, II*, 341-342.
- GILDER J., CRONSHAW J. (1973). The distribution of adenosine triphosphatase activity in differentiating and mature phloem cells of *Nicotiana tabacum* and its relationship to phloem transport. *J. Ultrastruct. Res., 44*, 388-404.
- GILDER J., CRONSHAW J. (1974). A biochemical and cytochemical study of adenosine triphosphatase activity in the phloem of *Nicotiana tabacum*. *J. Cell Biol., 60*, 221-235.
- GOFFEAU A., BRACHET J. (1965). Deoxyribonucleic acid dependent incorporation of amino-acids into the proteins of chloroplasts isolated from anucleate *Acetabularia* fragments. *Biochim. Biophys. Acta, 95*, 302-313.
- GOODCHILD D.J., BERGERSEN F.J. (1966). Electron microscopy of the infection and subsequent development of soybean nodule cells. *J. Bacteriol., 92*, 204-213.
- GOURLAY R.N. (1970). Isolation of a virus infecting a strain of *Mycoplasma laidlawii*. *Nature, 225*, p. 1165.
- GOURLAY R.N., BRUCE J., GARWES D.J. (1971). Characterization of mycoplasmatales virus *laidlawii*. *Nature, N.B., 229*, 118-119.
- GOURRET J.P., MAILLET P.L. (1968). Observation de mycoplasmes dans des plantes malades. *C. R. Soc. Biol., 162*, 1205-1207.
- GOURRET J.P., MAILLET P.L. (1969). Ultrastructure des mycoplasmes dans le phloème du cotonnier atteint de virescence. *Cot. Fib. trop., 24*, 325-326.
- GOURRET J.P. (1970). Ultrastructure et micro-écologie des mycoplasmes de phloème dans trois maladies des pétates verts. Etude des lésions cellulaires. *J. Microscopie, 9*, 807-822.
- GOURRET J.P. (1971). Evolution des plastes dans les végétaux infectés par des mycoplasmes : problèmes de la jaunisse et des pétates verts. *Physiol. Vég., 9*, 583-594.
- GOURRET J.P., LE NORMAND M. (1971). Les plastes des pétates virescents de la giroflée infectée par des mycoplasmes. *J. Microscopie, 12*, 151-156.

- GOURRET J.P., MAILLET P.L., GOURANTON J. (1973). Virus-like particles associated with the mycoplasmas of clover-phyllody in the plant and in the insect-vector. *J. gen. Microbiol.*, 74, 241-249.
- GOURRET J.P., FERNANDEZ-ARIAS H. (1974). Une étude ultrastructurale et cytochimique de la différenciation des bactéroïdes de *Rhizobium trifolii* Dangeard dans les nodules de *Trifolium repens* L. *Can. J. Microbiol.*, 20, 1169-1181.
- GOURRET J.P., THOMAS D., MAILLET P.L. (1974). Incorporation de thymidine tritiée par les mycoplasmes parasites du phloème d'une giroflée. Etude autoradiographique à haute résolution. *Can. J. Microbiol.*, 20, p. 1617.
- GOURRET J.P. (1974). Les mycoplasmes comme agents phytopathogènes. Données ultrastructurales confirmées et quelques problèmes nouveaux. *Colloque International sur les Mycoplasmes*, INSERM, 11-17 sept., Bordeaux, p. 215-222.
- GRAHAM P.H. (1964). The application of computer techniques to the taxonomy of the root-nodule bacteria of legumes. *J. gen. Microbiol.*, 35, 511-
- GRAHAM R.C., KARNOVSKY M.J. (1965). The early stages of absorption of injected horseradish peroxidase in the proximal tubules of mouse kidney : ultrastructural cytochemistry by a new technique. *J. Histochem. Cytochem.*, 14, 291-302.
- GRANADOS R.R., MARAMOROSCH K., SHIKATA E. (1968). Mycoplasma : suspected etiologic agent of corn stunt. *Proc. Nat. Acad. Sci., US*, 60, 841-844.
- GRASSE P.P. (1952). *Traité de Zoologie. Phylogénie; Protozoaires ; Généralités; Flagellés*. Ed. Masson et Cie. I, fasc. 1.
- GRASSE P.P., HOLLANDE A., CACHON J., CACHON-ENJUMET M. (1965a). Nouvelle interprétation de l'ultrastructure du chromosome de certains Péridiniens (*Prorocentrum*, *Gymnodinium*, *Amphidinium*, *Plectodinium* et *Xanthelles* d'Anémones. *C. R. Acad. Sci., Paris*, 260, 1743-1747.
- GRASSE J.P., HOLLANDE A., CACHON J., CACHON-ENJUMET M. (1965b). Interprétation de quelques aspects infrastructuraux des chromosomes de Péridiniens en division. *C. R. Acad. Sci., Paris*, 260, 6975-6981.
- GRIS A. (1858). Notes sur quelques cas de monstruosité et notamment sur la Rose Verte. *Ann. Sc. Nat.*, IX, 1776-1783.
- GRUND S. (1965). "Supercoiling"-system des Chromosoms gramnegativer Bakterien. *Naturwiss.*, 52, 116-
- GRUND S. (1974). Hochgeordnete Feinstruktur des Chromosoms in *Escherichia coli*. *Zbl. Met. Vet. B.*, 21, 73-92.
- GUNNING B.E.S., PATE J.S. (1969). "Transfer cells". Plant cells with wall ingrowths, specialized in relation to short distance transport of solutes, their occurrence, structure and development. *Protoplasma (österreich.)*, 68, 107-133.

- GUTTER B., ASHER Y., COHEN Y., BECKER Y. (1973). Studies on the developmental cycle of *Chlamydia trachomatis* : isolation and characterization of the initial bodies. *J. Bacteriol.*, 115, 691-702.
- HAECKEL E. (1866). *Generelle Morphologie der Organismen*. Berlin.
- HAECKEL E. (1878). *Das Protistenreich*. Berlin. (Et aussi traduction française *Le Règne des Protistes*, Paris, 1879).
- HAMKALO B.A., MILLER O.L. (1973). Electron microscopy of genetic activity. *Ann. Rev. Biochem.*, 42, 373-396.
- HARDY R.C. (1973). Communication at *Internat. Synthesis Meeting-Nitrogen Fixation and the Biosphere*. Edinburgh, 17-22 sept.
- HARRIS W.M. (1972). Ultrastructural observations on *Pinaceae* leaf phloem. I. The phloem condition. *New Phytol.*, 71, 169-173.
- HARRISON B.D., ROBERTS I.M. (1969). Association of mycoplasma-like bodies with potato witches' broom disease from Scotland. *Ann. appl. Biol.*, 63, 347-349.
- HATCH M.O., SLACK C.R. (1970). Photosynthetic CO₂-fixation pathways. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 21, 141-162.
- HATTEN B.A., SCHULZE M.L., HUANG S.Y., SULKIN S.E. (1969). Ultrastructure of *Brucella abortus* L-forms induced by penicillin in a liquid and in a semi-solid medium. *J. Bacteriol.*, 99, p. 611.
- HERZSBERG M., REVEL M. (1972). *Atlas de biologie moléculaire*. Ed. Hermann, Paris.
- HEUMANN W. (1952). Physiologische und morphologische Studien an *Rhizobium leguminosarum* in Knöllchen und auf verschiedenen Nährböden. *Ber. dt. bot. Ges.*, 65, p. 229.
- HIBINO H., SCHNEIDER H. (1970). Mycoplasmalike bodies in sieve tubes of pear trees affected with pear decline. *Phytopathology*, 60, 499-501.
- HILTNER L., STÖRMER K. (1903). Neue Untersuchungen über die Wurzelknöllchen der Leguminosen und deren Erreger. *Arb. K. Gsndtsamt. Biol.*, 3, 151-307.
- HICKMAN D.D., FRENKEL A.W. (1965). Observations on the structure of *Rhodospirillum molischianum*. *J. Cell Biol.*, 23, 279-291.
- HIRTH L. (1965). Remarques sur la classification des rhabdovirales dans le système de classification des virus de Lwoff, Horne et Tournier. *C. R. Acad. Sci.*, 261, 4556-4558.
- HIRUMI H., MARAMOROSCH K. (1972). Natural degeneration of mycoplasmalike bodies in an aster yellows infected host-plant. *Phytopathol. Z.*, 75, 9-26.
- HO L.C., PEEL A.J. (1969). Investigation of bidirectional movement of tracers in sieve tubes of *Salix viminalis* L. *Ann. Bot.* 33, 833-844.

- HOENIGER J.F.M., STUART P.F., HOLT S.C. (1968). Cytology of spore formation in *Clostridium perfringens*. *J. Bacteriol.*, 96, 1818-1834.
- HOLLANDE A. (1972). Le déroulement de la cryptomitose et les modalités de la ségrégation des chromatides dans quelques groupes de protozoaires. *Ann. Biol.*, 11, p. 428.
- HULL R., HORNE R.W., NAYAR R.M. (1969). Mycoplasma-like bodies associated with sandal spike disease. *Nature*, 224, 1121-112
- HUMMELER K., TOMASSINI N., HAYFLICK L. (1965). Ultrastructure of a *Mycoplasma (Negroni)* isolated from human leukemia. *J. Bacteriol.*, 90, 517-523.
- HUTCHINSON J. (1959). The families of flowering plants. *Clarendon Press*. 2è ed. Oxford.
- HUTCHINSON G.E. (1967). A treatise on limnology. Ed. *Wiley*, New-York, 2.
- HYDE B.B., HODGE A.J., KAHN A., BIRNSTIEL M.L. (1963). Studies on phytoferritin I. Identification and localization. *J. Ultrastruct. Res.*, 9, 248-258.
- IGWEGBE E.C.K., CALAVAN E.C. (1970). Occurrence of mycoplasma-like bodies in phloem of stubborn infected *Citrus seedling*. *Phytopathology*, 60, 499-501.
- ISHIIE T., DOI Y., YORA K., ASUYAMA H. (1967). Suppressive effects of antibiotics of tetracycline group on symptom development of Mulberry dwarf disease. *Ann. Phytopath. Soc. Japan*, 33, 267-275.
- ITERSON W. Van, RUYS C. (1960). The fine structure of the *Mycoplasmataceae* (Microorganisms of the pleuropneumonia group = PPLO) 1) *Mycoplasma hominis*, *M. fermentans* and *M. salivarium*. *J. Ultrastruct. Res.*, 3, 282-301.
- JACOLI G.G. (1974). Translocation of mycoplasma-like bodies through sieve pores in plant tissue cultures infected with aster yellows. *Can. J. Microbiol.*, 59, 2085-2088.
- JAKOVLEVA Z.M., AKSENOVA L.B. (1971). Ultrastructure des membranes intracytoplasmiques chez les bactéroïdes *Rhizobium trifolii* et *R. leguminosarum*. *Izvest. Akad. Nauk Kazakh SSR Ser. Biol.*, 2, 5-8.
- JENSEN H.L. (1963). Relations entre la plante-hôte et les *Rhizobium* du groupe *Lotus-Anthyllis*. *Ann. Inst. Pasteur*, 105, 232-236.
- JOHANSSON K.E. (1974). The cell membrane of *Acholeplasma laidlawii*. Thèse. Uppsala.
- JORDAN D.C. (1962). The bacteroids of the genus *Rhizobium*. *Bact. Rev.*, 26, 119-141.
- JORDAN D.C., GRINYER I., COULTER W.H. (1963). Electron microscopy of infection threads and bacteria in young root nodules of *Medicago sativa*. *J. Bacteriol.* 86, 125-137.

- JORDAN D.C., COULTER W.H. (1965). On the cytology and synthetic capacities of natural and artificially produced bacteroids of *Rhizobium leguminosarum*. *Can. J. Microbiol.*, 11, 709-720.
- JORDAN D.C., GRINYER I. (1965). Electron microscopy of the bacteroids and root nodules of *Lupinus luteus*. *Can. J. Microbiol.*, 11, 721-725.
- JOSHI H.U., CARR A.J.H., JONES D.G. (1967). Effect of clover phyllody virus on nodulation of white clover (*Trifolium repens*) by *Rhizobium trifolii*. *J. gen. Microbiol.*, 47, 139-151.
- JOSHI H.U., CARR A.J.H. (1967). Effect of clover phyllody virus on nodulation of white clover (*Trifolium repens*) by *Rhizobium trifolii* in soil. *J. gen. Microbiol.*, 49, 385-392.
- KELLENBERGER E. (1962). The study of natural and artificial DNA-plasms by thin sections. In Harris. *The interpretation of ultrastructure*. Acad. Press. New-York, London, p. 233-248.
- KERR D.N.S., MUIR A.R. (1960). A demonstration of the structure and disposition of ferritin in the human liver cell. *J. Ultrastruct. Res.*, 3, 313-319.
- KEYHANI E. (1972). Localisation cytochimique de la cytochrome oxydase chez la levure *Candida utilis*. *J. Microscopie*, 15, 343-352.
- KIDBY D.K., GOODCHILD D.J. (1966). Host influence on the ultrastructure of root nodules of *Lupinus luteus* and *Ornithopus sativus*. *J. gen. Microbiol.*, 45, 147-
- KIRK J.T.O., TILNEY-BASSETT R.A.E. (1967). The plastids. *Freeman, London, San-Francisco*.
- KLEIN S., POLJAKOFF-MAYBER A. (1961). Fine structure and pigment conversion in isolated etiolated proplastids. *J. Cell Biol.*, 11, 433-440.
- KLEINIG H., DÖRR I., WEBER C., KOLLMANN R. (1971). Filamentous proteins from plant sieve tubes. *Nature, New Biol.*, 229, 152-153.
- KLEMAN M., FRIEDEL J. (1969). Lignes de dislocation dans les cholestériques. *J. Physique Colloque*, 30, 4-43.
- KUNKEL L.O. (1926). Studies on aster yellows. *Amer. J. Bot.*, 13, 646-705.
- LAETSCH W.M. (1968). Chloroplast specialization in dicotyledons possessing the C₄-dicarboxylic acid pathway of photosynthetic CO₂ fixation. *Amer. J. Bot.*, 55, 875-883.
- LAFLECHE D., BOVE J.M. (1970a). Structure de type mycoplasme dans les feuilles d'orangers atteints de la maladie du "greening". *C. R. Acad. Sci.*, 270; 1915-1917.

- LAFLECHE D., BOVE J.M. (1970b). Mycoplasmes dans les agrumes atteints de "greening", de "stubborn" ou de maladies similaires. *Fruits*, 25, 455-465.
- LAIDLAW P.P., ELFORD W.J. (1936). A new group of filterable organisms. *Proc. Roy. Soc. (London)*, 120, 292-303.
- LARK C. (1966). Regulation of deoxyribonucleic acid synthesis in *Escherichia coli*; dependence on growth rates. *Biochim. biophys. Acta*, 119, p. 517.
- LECLANT F., MARCHOUX G., GIANNOTTI J., LOUIS C. (1971). Recherches sur une mycoplasme affectant *Lavandula hybrida* Rev. C. R. Acad. Sci., 272, 2982-2985.
- LEE D.R., ARNOLD D.C., FENSOM D.S. (1971). Some microscopical observations of functioning sieve tubes of *Heracleum* using Nomarski optics. *J. Exp. Bot.*, 22, 25-38.
- LEFORT M. (1965). Sur le chromatoplasma d'une Cyanophycée endosymbiotique : *Glaucozystis nostochinearum*. C. R. Acad. Sci., 261, 233-236.
- LE NORMAND M., GOURRET J.P. (1969). Une virescence de la giroflée *Cheiranthus (Erysimum) allionii* Hort. Ann. Phytopath. France, 1, 301-302.
- LE NORMAND M., GOURRET J.P., MAILLET P.L. (1971). Ultrastructure et développement des colonies d'une souche de *Mycoplasma laidlawii* en milieu solide. C. R. Acad. Sci., 273, 2016-2019.
- LE NORMAND M., COLENO A., GOURRET J.P., FERNANDEZ-ARIAS H. (1971). Etude de la graisse du haricot et de son agent : *Pseudomonas phaseolicola* (Bark) Dowson. I. Ultrastructure de la bactérie "in situ" et des modifications induites dans l'hôte sensible. Ann. Phytopathol., 3, 391-400.
- LEPINAY A., ORFILA J., ANTEUNIS A., BOUTRY J.M., ORME-ROSELLI L., ROBINEAUX R. (1970). Etude au microscope électronique du développement et de la morphologie de l'agent de l'ornithose dans les macrophages de souris. Ann. Inst. Pasteur, 119, 222-231.
- LERMAN L.S. (1973). Chromosomal analogues : long-range order in ψ -condensed DNA. In *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology. XXXVIII. Chromosome structure and function*, p. 59-73.
- LESEMANN D., CASPER R. (1970). "Mycoplasma-like bodies" in Kakteen mit Hexenbesenwuchs. *Phytopath. Zeitschr.*, 67, 175-179.
- LIN S., LEE C. (1968). Mycoplasma-like microorganism in white leaf disease of sugar cane. Ann. Rept. Taiwan Sugar Exptl. Sta., 17-22.
- LISS A., MANILOFF J. (1971). Isolation of mycoplasmatales viruses and characterization of MVL 1, MVL 2 and MVL 51. *Science*, 173, 725-727.
- LIU H.Y., BLACK L.M. (1974). The clover club leaf organism. Coll. Internat. sur les Mycoplasmes, INSERM, 11-17 sept., Bordeaux, p. 97-98.

- LJONES T. (1974). The enzyme system. In *The Biology of Nitrogen Fixation*. Ed. Quispel, North-Holland Publ. Co. Amsterdam, p. 617-638.
- LÖHNIS F., HANSEN R. (1921). Nodule bacteria of leguminous plants. *Jour. Agr. Res., U.S.*, 20, 543-556.
- LWOFF A., HORNE R.W., TOURNIER P. (1965). Proposal and recommendation of the provisional committee for nomenclature of viruses (PCNV).
- LWOFF A. (1957). The concept of virus. *J. gen. Microbiol.*, 17, 239-253.
- MAALØE O., KJELDGAARD (1966). Control of macromolecular synthesis. Ed. W.A. Benjamin, Inc. New-York.
- MAILLET P.L., GOURRET J.P., HAMON C. (1968). Sur la présence de particules de type mycoplasme dans le liber de plantes atteintes de maladies du type "jaunisse" (aster-yellow, phyllodie du trèfle, stolbur de la tomate) et sur la parenté ultrastructurale de ces particules avec celles trouvées chez divers Insectes Homoptères. *C. R. Acad. Sci.*, 270, 731-733.
- MAILLET P.L. (1968). Sur le pléomorphisme des particules Phi des Homoptères et leur appartenance aux Rickettsiales. *J. Microscopie*, 7, 42a.
- MAILLET P.L. (1970a). Infection simultanée par des particules du type PLT (Rickettsiales) et de type PPLO (Mycoplasmatales) chez un insecte vecteur de la phyllodie du trèfle, *Euscelis lineolatus* Brullé (Homoptera, Jassidae). *J. Microscopie*, 9, 827-832.
- MAILLET P.L. (1970b). Contribution à l'étude du cycle des Mycoplasmes, à propos des "poches à Mycoplasmes" dans les glandes salivaires d'*Euscelis lineolatus* Brullé, vecteur de la Phyllodie du trèfle. *C. R. Acad. Sci.*, 270, 731-733.
- MAILLET P.L., FOLLIOT R. (1964). Sur le transport de corpuscules d'allure rickettsienne par un spermatozoïde. Etude au microscope électronique. *C. R. Acad. Sci.*, 259, 2717-2720.
- MAILLET P.L., FOLLIOT R. (1967). La transmission transpermatozoïdienne de microorganismes à propos d'observations ultrastructurales chez les Insectes. *C. R. Soc. Biol.*, 161, 440-442.
- MAILLET P.L., FOLLIOT R. (1967). Nouvelles observations sur le transport de microorganismes intranucléaires appelées particules Phi, par les spermatozoïdes chez les Insectes Homoptères. *C. R. Acad. Sci.*, 264, 965-968.
- MAILLET P.L., FOLLIOT R. (1968). Sur le transport de microorganismes (particules Phi) par les cellules germinales femelles chez l'Homoptère *Typhlocyba douglasi* Edw. *C. R. Acad. Sci.*, 266, 923-925.
- MAILLET P.L., GOURANTON J. (1970). L'intestin moyen de certains Homoptères, lieu de transit et de multiplication des particules de type Mycoplasme. *C. R. Acad. Sci.*, 270, 1535-1536.

- MAILLET P.L., GOURANTON J. (1971). Etude du cycle biologique du mycoplasme de la phyllodie du trèfle dans l'insecte-vecteur *Euscelis lineolatus* Brullé (Homoptera Jassidae). *J. Microscopie*, 11, 143-162.
- MANILOFF J. (1972). Cytology of the mycoplasmas. In *Pathogenic Mycoplasmas Ciba Foundation Symposium, London 25-27 Jan.* Ass. Scient. Publ. Amsterdam, p. 67-91.
- MANILOFF J., DAS J., LISS A. (1974). Studies of mycoplasma viruses. *Coll. Internat. sur les Mycoplasmes, INSERM, 11-17 sept., Bordeaux*, p. 117-123.
- MARAMOROSCH K. (1974). Mycoplasmas and Rickettsiae in relation to plant diseases. *Ann. Rev. Microbiol.*, 301-324.
- MARAMOROSCH K., MARTINEZ A.L., MAISEY S. (1962). Translocation of aster yellows virus in aster plants. *Phytopathology*, 52, p. 20.
- MARAMOROSCH K., SHIKATA E., GRANADOS R.R. (1968). Structures resembling mycoplasma in diseased plants and in insect vectors. *Trans. N.Y. Acad. Sci.*, 30, 841-855.
- MARGULIS L. (1971). The origin of plant and animal cells. *Amer. Scient.*, 59, 230-236.
- MARKHAM P.G., TOWNSEND R. (1974). Transmission of *Spiroplasma citri* to plants. *Coll. Internat. sur les Mycoplasmes, INSERM, 11-17 sept., Bordeaux*, 201-206.
- MARTELLI G.P., RUSSO M., CIRULLI M. (1969). Some observations on the stolbur disease of tomato in Apulia. *Phytopath. Mediter.*, 8, 150-154.
- MASON T.G., MASKELL E.J. (1928). Studies on the transport of carbohydrates in the cotton plant. II. The factors determining the rate and the direction of movement of sugars. *Ann. Bot.*, 42, 571-636.
- MERESCHKOWSKY C. (1905). Über Natur und Ursprung der Chromatophoren im Pflanzenreiche. *Biol. Centralbl.*, 25, 593-604.
- MILLER O.L., BEATTY B.R. (1969). Visualization of nucleolar genes. *Science*, 164, 955-957.
- MILLER O.L., HAMKALO B.A. (1972). Visualization of RNA synthesis on chromosomes. *Int. Rev. Cytol.*, ed. Bourne et Danielli, 33, 1-25.
- MOFFETT M.L., COLWELL R.R. (1968). Adansonian analysis of the *Rhizobiaceae*. *J. gen. Microbiol.*, 51, 245-266.
- MOLL J., MARTIN M. (1974). Comparison of the organism causing greening disease with several plant pathogenic gram-negative bacteria, Rickettsia-like organisms and Mycoplasma-like organisms. *Coll. Internat. sur les Mycoplasmes, INSERM, 11-17 sept., Bordeaux*, p. 89-96.
- MOLLENHAUER H.H., KOGUT C. (1968). Chromoplast development in daffodil. *J. Microscopie*, 7, 1045-1050.

- MORCK D. (1891). Über die Formen der Bakteroiden bei den Einzelnen Spezies der Leguminosen. *Inaug. Diss. Leipzig*, p. 44.
- MOSSE B. (1964). Electron microscope studies of nodule development in some clover species. *J. gen. Microbiol.*, 36, 49-66.
- MULDER E.G., BROTONEGORO S. (1974). Free-living heterotrophic nitrogen-fixing bacteria. In *The Biology of Nitrogen Fixation*. ed. Quispel, North-Holland Publ. Co. Amsterdam, p. 37-85.
- MÜLLER A., STAPP C. (1925). Beiträge zur Biologie der Leguminosen knöllchenbakterien mit besonderer Berücksichtigung ihrer Artverschiedenheit. *Arb. Biol. Reichsanst. Land. u. Forstw.*, 14, 455-554.
- MÜLLER H.A. (1971). Electron microscopic demonstration of mycoplasma-like organisms in phloem of *Hydrangea macrophylla*. *Zentralblatt*, 126, p. 564.
- MURMANIS L., EVERT R.F. (1966). Some aspects of sieve cell ultrastructure in *Pinus strobus*. *Amer. J. Bot.*, 53, 1065-1078.
- MUSCATINE L., GREENE R.W. (1973). Chloroplasts and Algae as symbionts in Molluscs. *Int. Rev. Cytology*, 36, 137-169.
- NANNINGA N. (1973). Structural aspects of ribosomes. In *Bourne et Danielli*. *Int. Rev. Cytology*, 35, 135-188.
- NASS S., NASS M.M.K. (1963). An electron histochemical study of mitochondrial fibrous inclusions. *J. Roy. Micr. Soc.*, 81, p. 209.
- NASS S. (1969). The significance of the structural and functional similarities of bacteria and mitochondria. *Int. Rev. Cyt.*, 25, 55-129.
- NASU S., JENSEN D.D., RICHARDSON J. (1970). Electron microscopy of mycoplasma-like bodies associated with insect and plant hosts of peach western X-disease. *Virology*, 41, 583-595.
- NOCARD E., ROUX E.R., BORREL, SALIMBENI, DUJARDIN-BAUMETZ (1898). Le microbe de la péricarpneumonie. *Ann. Inst. Pasteur*, 12, 240-262.
- NORRIS D.O. (1965). Acid production by *Rhizobium* : a unifying concept. *Plant and Soil*, 22, 143-166.
- NOVIKOFF A.B., GOLDFISCHER S. (1969). Visualization of peroxisomes (microbodies) and mitochondria with diaminobenzidine. *J. Histochem. Cytochem.*, 17, 675-680.
- NOVIKOFF A.B. (1970). Visualization of cell organelles by diaminobenzidine reactions. 7ème Cong. Internat. Micr. Electr., Grenoble.
- NOWAK J. (1929). Morphologie, nature et cycle évolutif du microbe de la péricarpneumonie des bovidés. *Ann. Inst. Pasteur*, 43, 1330-1352.
- OPPENHEIM J., MARCUS L. (1970). Correlation of ultrastructure in *Azotobacter vinelandii* with nitrogen source for growth. *J. Bacteriol.*, 101, 286-291.

- QUISPEL A. (1974a). Development of root-nodule symbioses : the endophytes of the root nodules in non-leguminous plants. *The Biology of Nitrogen Fixation*, ed. Quispel, North-Holland Publ. Co. Amsterdam, p. 499-520.
- QUISPEL A. (1974b). Prerequisites for biological nitrogen fixation in root-nodule symbioses. In *The Biology of Nitrogen Fixation*, ed. Quispel, North-Holland Publ. Co. Amsterdam, p. 719-745.
- RASA E.A., ESAU K. (1961). Anatomic effects of curly top and aster yellows viruses on tomato. *Hilgardia*, 30, 469-515.
- RASSEL A. (1972). Mise en évidence d'inclusions paracristallines dans le reticulum endoplasmique d'excroissances foliaires de *Pisum sativum* induites par le virus de la mosaïque enation du pois. *C. R. Acad. Sc.*, 274, 2871-2874.
- RAUTANEN N., SAUBERT S. (1955). Root nodules of leguminous plants. A chemical study. *Acta chemica fenn.*, 28, p. 66.
- RAVEN P.H. (1970). A multiple origin for plastids and mitochondria. *Science*, N.Y., 169, 641-646.
- RAZIN S., NE'EMAN Z. (1974). Developments and problems in mycoplasma membrane research. *Coll. Internat. Mycoplasmes, INSERM*, 11-17 sept., Bordeaux, 55-62.
- RIS H., PLAUT W. (1962). Ultrastructure of DNA-containing areas in the chloroplast of *Chlamydomonas*. *J. Cell Biol.*, 13, 383-391.
- ROBINSON C. (1961). Liquid crystalline structures in polypeptide solutions. *Tetrahedron*, 13, 219-234.
- ROBINSON C. (1966). The cholesteric phase in polypeptide solutions and biological structures. *Mol. Crystals*, 1, 467-494.
- RODWELL A. (1974). Developments in mycoplasma nutrition. *Coll. Internat. sur les Mycoplasmes, INSERM*, 11-17 sept., Bordeaux, p. 79-85.
- ROSEN N.G., SIEGESMUND K.A. (1961). Some observations on the fine structure of a thermophilic acidophilic alga. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 9, 910-914.
- RYTER A., KELLENBERGER E. (1958). Etude au microscope électronique de plasmas contenant de l'acide désoxyribonucléique. I. Les nucléoïdes des bactéries en croissance active. *Z. Naturforsch.*, 13, p. 597.
- RYTER A. (1965). Etude morphologique de la sporulation de *Bacillus subtilis*. *Ann. Inst. Pasteur*, 108, 40-60.
- SAGAN L. (1967). On the origin of mitosing cells. *J. theoret. Biol.*, 14, 225-274.
- SAGLIO P., LAFLECHE D., BONISSOL C., BOVE J.M. (1971). Isolement, culture et observation au microscope électronique des structures de type mycoplasme associées à la maladie du stubborn des agrumes et leur comparaison dans le cas de la maladie du greening des agrumes. *Physiol. Vég.*, 9, 569-582.

- SAGLIO P., DAVIS R., DALIBART R., DUPONT G., BOVE J.M. (1974). *Spiroplasma citri* l'espèce type des spiroplasmes. *Coll. Internat. sur les Mycoplasmes, INSERM*, 11-17 sept., Bordeaux, p. 27-34.
- SCHAEDE R. (1941). Untersuchungen in den Wurzelknöllchen von *Vicia faba* und *Pisum sativum*. *Beitr. Biol. Pfl.*, 27, p. 165.
- SCHAEFFER P., IONESCO H., RYTER A., BALASSA G. (1963). La sporulation de *Bacillus subtilis*; étude génétique et physiologique. In *Coll. Internat. CNRS, Mécanismes de régulation des activités cellulaires chez les microorganismes*, Marseille, p. 553-563.
- SCHMITZ K., SRIVASTAVA L.M. (1975). On the fine structure of sieve tubes and the physiology of assimilate transport in *Alaria marginata*. *Can. J. Bot.*, 53, 861-876.
- SELIGMAN A.M., KARNOVSKY M.J., WASSERKRUNG H.L., HANKER J.S. (1968). Non droplet ultrastructural demonstration of cytochrome oxidase activity with polymerising osmiophilic-reagent, diaminobenzidine (DAB). *J. Cell Biol.*, 38, 1-14.
- SENEZ J.C. (1968). Microbiologie générale. Ed. Doin, Deren et Cie.
- SHAW M., MANOCHA M.S. (1965). The physiology of host-parasite relations. XV. Fine structure in rust infected wheat leaves. *Canad. J. Bot.*, 43, 1285-1292.
- SHIKATA E. (1969). Presumptive mycoplasma etiology of yellows diseases. *Fao Plant Protect. Bull.*, 17, 121-128.
- SHIKATA E., TENG W.S., MATSUMOTO T. (1969). Mycoplasma or PLT like microorganisms detected in leaves of sugarcane plants infected with white-leaf disease and the suppression of the disease symptoms by the antibiotics of tetracycline group. *Jour. Facul. Agr. Hokkaido Univ.*, 56, 79-90.
- SHIVELY J.M. (1974). Inclusion bodies in prokaryotes. *Ann. Rev. Microbiol.*, 28, 167-187.
- SHUNK I.V. (1921). Notes on the flagellation of the nodule bacteria of leguminosae. *J. Bact.*, 6, 239-248.
- SIMIONESCU N., SIMIONESCU M., PALADE G. (1973). Permeability of muscle capillaries to exogenous myoglobin. *J. Cell Biol.*, 57, 424-452.
- SINGH K.G., SAKO Y., NASU S. (1970). Mycoplasma-like structures in rice plant infected with "padi jantan" disease. *Malaysian Agric. Journ.*, 47, 333-337.
- SINHA R.C., PALIWAL Y.C. (1969). Association development and growth cycle of mycoplasma like organisms in plants affected with clover phyllody. *Virology*, 39, 759-767.
- SMITH J.D. (1949). Haemoglobin and the oxygen uptake of leguminous root nodules. *Biochem. J.*, 44, 591-598.

- SMITH P., MAYBERRY-CARSON K.J., LANGWORTHY T.A., MAYBERRY W.R., SUGIYAMA T. (1974). The lipopolysaccharides of mycoplasmas. *Coll. Internat. Mycoplasmes, INSERM*, 11-17 sept., Bordeaux, 63-67.
- SOYER M.O., HAAPALA O.K. (1973). Filaments extra-chromosomiques : variations et relations avec l'enveloppe nucléaire pendant la division chez les Dinoflagellés. *J. Microscopie*, 18, 267-270.
- SOYER O., HAAPALA O.K. (1974). Division and function of Dinoflagellate chromosomes. *J. Microscopie*, 19, 137-146.
- SPANNER D.C. (1958). The translocation of sugar in sieve tubes. *J. exp. Bot.*, 9, 332-342.
- SPANNER D.C. (1970). The electro-osmotic theory of phloem transport in the light of recent measurements on *Heracleum* phloem. *J. exp. Bot.*, 21, 325-334.
- SRIVASTAVA L.M., O'BRIEN T.P. (1966). On the ultrastructure of cambium and its vascular derivatives. II. Secondary phloem of *Pinus strobus* L. *Protoplasma*, 61, 277-293.
- STANIER R.Y., VAN NIEL C.B. (1962). The concept of a bacterium. *Arch. Mikrobiol.*, 42, 17-35.
- STANIER R.Y. (1970). Some aspects of the biology of cells and their possible evolutionary significance. In *Organization and Control in Prokaryotic and Eukaryotic Cells. Symp. Soc. gen. Microbiol.*, 20, p. 1-38.
- STANIER R.Y., DOUDOROFF M., ADELBERG E.A. (1966). Microbiologie générale. *Précis de Sciences Biologiques sous la direction de P.P. Grassé. Ed. Masson et Cie. Paris.*
- STASNY J.T., BURNS R.C., KORANT B.D., HARDY R.W.F. (1974). Electron microscopy of the Mo-Fe protein from *Azotobacter nitrogenase*. *J. Cell Biol.*, 60, 311-316.
- STAVELY J.R., PILLAI A., HANSON E.W. (1969). Electron microscopy of the development of *Erysiphe polygoni* in resistant and susceptible *Trifolium pratense*. *Phytopath.*, 59, 1688-1693.
- STENT G.S. (1964). The operon : on its third anniversary. Modulation of transfer RNA species can provide a workable model of an operator-less operon. *Science*, 144, 816-820.
- STRULLU D.G. (1973). Etude morphologique et essai d'interprétation de déformations chez *Pseudotsuga menziesii*, *Picea sitchensis* et *Abies grandis*. *R.F.F.*, XXV, 28-31.
- SUTTON W.D. (1974). Some features of the DNA of *Rhizobium* bacteroids and bacteria. *Biochim. Biophys. Acta*, 366, 1-10.

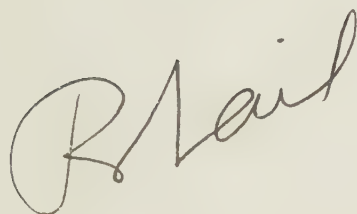
- SWIFT H., WOLSTENHOLME D.R. (1969). Mitochondria and chloroplasts : nucleic acids and the problem of biogenesis (genetics and biology). In *Handbook of Molecular Cytology*. Ed. A. Lima de Farria. North-Holland Publ. Co. Amsterdam-London, 972-1046.
- TARDIEUX A. (1968). Fixation symbiotique de l'azote. *Ann. Biol.*, 7, 105-145.
- THAINE R. (1962). A translocation hypothesis based on the structure of plant cytoplasm. *J. exp. Bot.*, 13, 152-160.
- THAINE R. (1969). Movement of sugars through plants by cytoplasmic pumping. *Nature*, 222, 873-874.
- TREMOLIERES A. (1974). La différenciation des appareils photosynthétiques au cours de la croissance et du verdissement des feuilles. *Ann. Biol.*, 13, 561-577.
- TRIHARSO (1972). Peanut witches'broom associated with mycoplasma-like bodies. *Symposium on mycoplasmal diseases. Chandigarh, 31 déc.-1 jan., Ind. Nat. Sci. Acad.*, p. 38-39.
- TRIHARSO , GOURRET J.P. (1975). Etude ultrastructurale d'une virose et d'une mycoplasmoses de l'arachide (*Arachis hypogaea* L.). *C. R. Acad. Sci. Paris*, (à paraître).
- TRIP P., GORHAM P.R. (1968). Bidirectional translocation of sugars in sieve tubes of squash plants. *Plant Physiol.*, 43, 877-882.
- TRUCHET G. (1970). Etudes cytologiques infrastructurales sur un cas de symbiose (*Pisum sativum* et *Rhizobium leguminosarum*) : relations entre la cellule-hôte et la bactérie. *C. R. Acad. Sci.*, 270, 3047-3050.
- TRUCHET G. , COULOMB P. (1971). Localisation de la phosphatase acide et de la peroxydase dans les cellules de nodules radiculaires de pois (*Pisum sativum*). Relations entre la cellule-hôte et la bactérie. *C. R. Acad. Sci. Fr.*, 272, 1499-1502.
- TRUCHET G. (1972). Mise en évidence de l'activité peroxydasique dans les différentes zones des nodules radiculaires de pois (*Pisum sativum* L.) Localisation de la leghémoglobine. *C. R. Acad. Sci.*, 274, 1290-1293.
- TRUCHET G. (1973). Contribution à l'étude des nodosités produites sur le pois (*Pisum sativum* L.) par le *Rhizobium leguminosarum*. Etude infrastructurale et localisations enzymatiques. Notion de symbiose. *Thèse de 3ème Cycle, Marseille-Luminy*.
- TRUCHET G., DENARIE J. (1973). Structure et activité réductrice d'acétylène des nodules de luzerne (*Medicago sativa* L.) induits par des mutants de *Rhizobium meliloti* auxotrophes pour l'adénine et pour l'uracile. *C. R. Acad. Sci.*, 277, 841-844.

- TRÜPER H. (1968). *Ectothiorhodospira mobilis* Pelsh, a photosynthetic sulphur bacterium depositing sulfur outside the cells. *J. Bacteriol.*, 95, 1910-1920.
- VANDERVEKEN J. (1964). Influence d'un virus sur la nodulation chez *Trifolium repens*. *Ann. Inst. Pasteur*, 107, 143-148.
- VANDERVEKEN J. (1966). Interaction between clover phyllody virus and trifolium nodulation. In *Viruses of Plants*. Ed. Beemster A.B.R. et Dykstra J., North-Holland, Amsterdam, p. 166-169.
- VAN DYKE C.G., HOOKER A.L. (1969). Ultrastructure of host and parasite in interactions of *Zea mays* with *Puccinia sorghi*. *Phytopath.*, 59, 1934-1936.
- VINCENT J.M. (1974). Root nodules symbioses with *Rhizobium*. *The Biology of Nitrogen Fixation*, Ed. Quispel, North-Holland Publ. Co. Amsterdam, p. 265-341.
- WALLACE F.G., WAGNER M., ROGERS W.E. (1973). Varying kinetoplast ultrastructure in two subspecies of *Herpetomonas muscarum* (Leydi). *J. Protozool.*, 20, 218-222.
- WEATHERLEY P.E., JOHNSON R.P.C. (1968). The form and function of the sieve tube. *Inter. Rev. Cytol.*, 24, 149-192.
- WEATHERLEY P.E. (1972). Translocation in sieve tubes. Some thoughts on structure and mechanism. *Physiol. Veg.*, 10, 731-742.
- WEBER C., FRANKE W.W., KARTENBECK J. (1974). Structure and biochemistry of phloem-proteins isolated from *Cucurbita maxima*. *Exp. Cell Res.*, 87, 79-106.
- WEINTRAUB M., RAGLETI H.W.J. (1966). Fine structure of inclusions and organelles in *Vicia faba* infected with bean yellow mosaic virus. *Virology*, 28, 290-302.
- WEINTRAUB M., RAGLETI H.W.J., LO E. (1974). Potato virus Y particles in plasmodesmata of tobacco leaf cells. *J. Ultrastruct. Res.*, 46, 131-148.
- WESTPHAL E., HEITZ B. (1971). Tératologie végétale. Mise en évidence de mycoplasmes dans le phloème de *Linum austriacum* L. atteint de virescence. *C. R. Acad. Sci.*, 272, 2552-2554.
- WHITTAKER R.H. (1969). New concepts of kingdoms of organisms. Evolutionary relations are better represented by new classifications than by the traditional two kingdoms. *Science*, 163, 150-160.
- WIGAND A. (1887). Bakterien innerhalb des geschlossenen Gewebes der knollenartigen Anschwellungen der Papilionaceen-Wurzeln. *Forsch. Bot. Gart. (Marburg) Bot. Hefte*, 2, 86-87.
- WILLIAMS P.H., YUKAWA Y.B. (1967). Ultrastructural studies on the host-parasite relations of *Plasmodiophora brassicae*. *Phytopath.*, 57, 682-688.
- WILSON J.K. (1944). Over five hundred reasons for abandoning the cross-inoculation groups of the legumes. *Soil Sci.*, 58, 61-

- WINDSOR J.M., BLACK L.M. (1973). Evidence that clover leaf is caused by a rickettsia-like organism. *Phytopathology*, 63, 1139-1148.
- WOODING F.B.P. (1966). The development of the sieve elements of *Pinus pinea*. *Planta*, 69, 230-243.
- WOODING F.B.P. (1968). Fine structure of callus phloem in *Pinus pinea*. *Planta*, 83, 99-110.
- WORLEY J.F. (1973). Evidence in support of "open" sieve-tube pores. *Protoplasma*, 76, 129-132.
- WRISCHER M. (1973). Protein crystalloids in the stroma of bean plastids. *Protoplasma*, 77, 141-150.
- WROBLEWSKI H. (1974). Etude de la structure et de la spécificité antigéniques des membranes de mycoplasmes. *Thèse, Rennes*.
- YOCUM C.S. (1964). Recent studies of symbiotic nitrogen fixation. *Science*, 146, p. 432.
- YOUNG J.E., FITZ-JAMES P.C. (1962). Chemical and morphological studies of bacterial spore formation. IV. The development of spore refractility. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 12, 115-133.
- ZIEGLER H. (1958). Über die Atmung und den Stofftransport in den isolierten Leitbündeln der Blattstiele von *Heracleum mantegazzianum* Somm. et Lev. *Planta*, 51, 186-200.
- ZOETEN de G.A., GAARD G., DIEZ F.B. (1972). Nuclear vesiculation associated with pea enation mosaic virus-infected plant tissue. *Virology*, 48, 638-647.
- ZUSMAN D.R., CARBONELL A., HAGA J.Y. (1973). Nucleoid condensation and cell division in *Escherichia coli* MX 74 T 2 ts 52 after inhibition of protein synthesis. *J. Bacteriol.*, 115, 1167-1178.

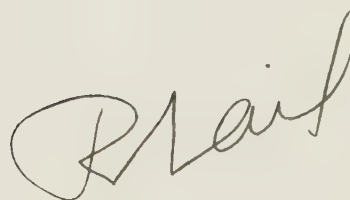
VU :

Le Président de la Thèse

A handwritten signature in dark ink, appearing to read "R. Mail". The signature is fluid and cursive, with a large initial "R" and a stylized "Mail".

VU :

Le Directeur de Thèse

A handwritten signature in dark ink, appearing to read "R. Mail". The signature is fluid and cursive, with a large initial "R" and a stylized "Mail".

VU pour autorisation de soutenance

RENNES 1e

Le Président de l'Université de RENNES

C. CHAMPAUD

